

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

PROCESSUS DE GUÉRISON DES LÉSIONS NECROTIQUES PROVOQUÉES PAR LES INOCULATIONS MASSIVES DE BCG,

par J. ZEYLAND (Poznan).

Dans les expériences sur les animaux de laboratoire, après les inoculations de fortes doses de BCG, il peut arriver que l'on observe parfois la formation de lésions nécrotiques, ainsi que l'ont déjà signalé certains auteurs, particulièrement Kraus (1), Gerlach (2), etc.

Dans un travail antérieur, publié avec M^{me} Piasecka-Zeyland (3), nous avons pu préciser les conditions dans lesquelles ces lésions nécrotiques se produisent : c'est toujours après les inoculations qui permettent une énorme agglomération de bacilles BCG dans les tissus. Dans les mêmes conditions, les bacilles BCG tués provoquent des lésions tuberculeuses identiques, avec nécrose,

Cette propriété nécrosante est due aux endotoxines et on peut

(1) *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.*, 51, 1927; *Wiener klin. Woch.*, n° 2, 1927, p. 49.

(2) *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.*, 51, 1927; *Deutsche Tierärztliche Woch.*, 36, p. 849.

(3) Ces *Annales*, 42, 1928, p. 632.

la constater aussi chez quelques saprophytes acido-résistants, le bacille de la fléole par exemple.

Nos expériences antérieures nous ont enseigné que la nécrose survient le plus souvent après les inoculations intrapleurales et intrarénales. Elle est rare après les injections intrapéritonéales, ce que nous avons expliqué par une plus grande dispersion des bacilles par suite des mouvements péristaltiques de l'intestin.

Pour les expériences relatées ci-après, dont le but est d'observer l'évolution des lésions nécrotiques dues au BCG, je me suis adressé aux inoculations intrarénales, malgré certaines difficultés techniques, parce que la nécrose rénale, obtenue d'une façon constante, est à l'abri des contusions externes. La possibilité d'une observation prolongée de un à deux ans m'a paru ainsi assurée.

L'aide de M. Dega, chirurgien de la Clinique Orthopédique, qui a bien voulu faire toutes les opérations chirurgicales dont je le remercie très cordialement, a permis de vaincre les difficultés techniques liées à cette méthode.

23 lapins ont été inoculés avec une parcelle de culture de BCG dans le rein après isolement par voie extra-péritonéale et incision de cet organe. Le sang épanché et coagulé a fermé la blessure rénale. Chez 8 animaux, une biopsie de contrôle fut effectuée après divers laps de temps, de vingt jours à trois mois. Cette biopsie, suivie de l'examen microscopique d'une partie de la nécrose produite par le BCG, nous a paru nécessaire lorsque nous avons constaté la guérison complète des lésions nécrotiques très étendues, pour attester que celles-ci existaient antérieurement. En réalité, chez ces 8 animaux nous avons trouvé de gros nodules à contenu nécrotique.

Le tableau ci-contre résume ces expériences.

Dans ce tableau nous n'avons noté que l'aspect macroscopique des lésions rénales. Voici quelle fut l'évolution microscopique de ces lésions :

Dans les premiers jours qui suivent l'inoculation, on peut observer de la nécrose du tissu rénal autour de la blessure opératoire. Cette nécrose renferme d'énormes masses de BCG, entourées de nombreux polynucléaires, dont beaucoup ont phagocyté des bacilles. Au bout de deux semaines, un nodule

NUMÉRO	SIGNALEMENT	DURÉE TOTALE de l'observation	NOMBRE DE JOURS après lesquels est faite l'opération de contrôle	SACRIFIÉ ou mort de maladie	ASPECT MACROSCOPIQUE de la lésion rénale	OBSERVATIONS
1	83/27	4 jours.	—	Mort de péritonite.	Dans la blessure rénale, sang coagulé.	On a employé des bacilles BCG tués.
2	4/28 B	7 jours.	—	Mort de pneumonie.	Dans la blessure rénale, masses blanchâtres.	On a employé des bacilles BCG tués.
3	2/28	18 jours.	—	Sacrifié.	Nodule de la dimension d'un pois, masses nécrotiques.	On a employé des bacilles BCG tués.
4	69/27	21 jours	—	Sacrifié.	Nodule de la dimension d'un pois, masses nécrotiques.	
5	1/28	21 jours.	—	Sacrifié.	Nodule de la dimension d'un grain de poivre.	On a employé des bacilles BCG tués.
6	84/27	22 jours.	—	Sacrifié.	Nodule de la dimension d'un pois, masses nécrotiques.	On a employé des bacilles BCG tués.
7	76/27	25 jours.	—	Sacrifié.	Nodule de 45 X 41 X 40 millimètres, masses nécrotiques.	
8	5/28	25 jours.	—	Mort de pneumonie.	Nodule de la dimension d'un pois, masses nécrotiques.	
9	6/28	50 jours.	43 jours.	Mort de pneumonie.	Nodule de la dimension d'un grain de poivre.	
10	3/28	55 jours.	—	Sacrifié.	Nodule de la dimension d'un grain de poivre.	On a employé des bacilles BCG tués.
11	16/28	2 mois.	—	Mort de pseudo-tuberculose.	Nodule de la dimension d'un grain de poivre, masses pétrioliques et calcifiées.	
12	13/28	4 mois.	—	Sacrifié.	Nodule de la dimension d'un gros pois.	
13	9/28	10 mois.	34 jours.	Sacrifié.	Cicatrice.	
14	77/21	12 mois.	—	Sacrifié.	Nodule de la dimension d'un pois.	
15	84/27 B	12 mois.	—	Sacrifié.	Nodule de la dimension d'un grain de millet.	
16	78/27	13 mois.	—	Sacrifié.	Nodule de 1 millimètre de diamètre.	
17	4/28 A	15 mois.	—	Sacrifié.	Nodule de la dimension d'un pois	
18	7/28	16 mois.	42 jours.	Sacrifié.	Aucune trace de lésion.	
19	10/28	20 mois.	20 jours.	Mort d'une énorme cysticose.	Aucune trace de lésion.	
20	12/28	21 mois.	55 jours.	Mort de hernie opératoire.	Aucune trace de lésion.	
21	11/28	24 mois.	28 jours.	Sacrifié.	Point jaunâtre à peine visible.	
22	17/28	24 mois.	3 mois.	Mort de pneumonie.	Cicatrice.	
23	8/28	26 mois.	40 jours.	Sacrifié.	Point jaunâtre à peine visible.	

se constitue, composé de masses nécrotiques qui sont entourées d'un tissu tuberculeux typique (cellules épithélioïdes, cellules géantes) mais riche en capillaires (fig. 1). Les masses nécrotiques renferment de volumineux amas de bacilles qui se trouvent beaucoup moins nombreux dans les cellules épithélioïdes de la coque. Même dans les premières semaines, nous avons pu observer très régulièrement des formes actinomycosiques (1) autour des amas de bacilles.

Plus tard, dès le deuxième mois, on trouve des grumeaux calcifiés parmi les masses nécrotiques. Dans le même temps,



FIG. 1. — Rein du lapin n° 16/28. Grand nodule contenant des masses nécrotiques deux mois après l'inoculation de BCG.

le tissu de ces granulomes perd l'aspect spécifique; on n'observe plus de cellules épithélioïdes ni de cellules géantes et la nécrose centrale n'est entourée que d'une coque fibreuse.

Au bout d'une année on peut constater les divers stades de guérison; parfois encore des nodules nécrotiques, mais le plus souvent ceux-ci sont très petits, de la dimension d'un grain de millet jusqu'à celle d'un pois. Alors les masses nécrotiques, de la coque fibreuse, sont incrustées de grains calcifiés et les bacilles y sont rares. Parfois cependant des cicatrices seules se rencontrent au lieu d'inoculation ou même, dans la seconde moitié de la deuxième année, on ne peut plus retrouver leur trace.

Ces cicatrices montrent sous le microscope des infiltrations

(1) Ces *Annales*, 43, 1929, p. 778.

lymphocytaires et de rares cristaux de chaux (fig. 2.). Les bacilles ne s'y rencontrent qu'en très petit nombre; le plus souvent, ils ont perdu leur acido-résistance, présentent une forme allongée et se colorent par l'hématoxyline. On les reconnaît surtout par leur localisation au centre des rares formes actinomycosiques qu'on trouve après environ deux ans. Les masses de ces formes actinomycosiques ne prennent plus le Gram : on

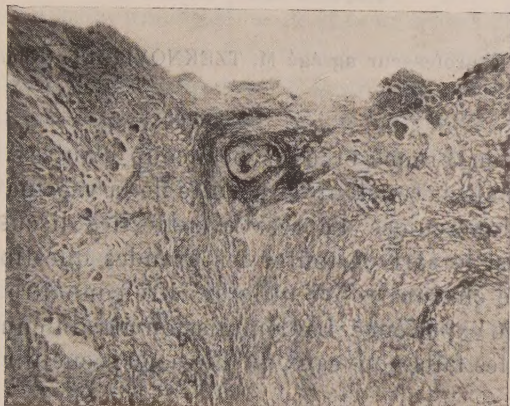


FIG. 2. — Microphotogramme de la cicatrice du rein du lapin n° 11/28. Résidu, après deux années, d'un nodule antérieurement identique à celui de la figure 1.

ne les distingue que parce qu'elles se colorent très faiblement par l'hématoxyline.

Nous avons suivi la régression de ces lésions jusqu'à vingt-six mois après l'inoculation et nous avons pu nous convaincre que la guérison était parfaite. Elle est précédée par une disparition totale des bacilles.

Cette constatation nous prouve, une fois de plus, l'extrême bénignité des lésions provoquées par les fortes doses de BCG, même lorsqu'elles déterminent une nécrose qui, elle aussi, guérit spontanément et complètement.

(Laboratoire d'Anatomie pathologique de la Clinique infantile du professeur K. Jonscher, Faculté de Médecine de Poznan, Pologne.)

SUR LES PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DE LA SOUCHE BCG

**(DOCUMENTS DE LA COMMISSION UKRAINIENNE DU BCG.
TRAVAUX DES D^{rs} GOLDENBERG, KAROUTE, KOCHKINE,
OBUHOVSKY, IAKHNIS)**

par le professeur agrégé M. TZEKNOVITZER (Kharkoff).

Bien qu'en France et dans beaucoup d'autres pays on ait démontré déjà la constante innocuité de la vaccination préventive de la tuberculose d'après Calmette, les discussions continuent. C'est le sort de toutes les grandes questions, et il est naturel que chacun trouve utile de faire connaître les résultats de sa propre expérience. La Commission ukrainienne a le devoir de publier les faits nouveaux qu'elle a pu recueillir.

I. — CULTURES DE PASSAGES DE BCG.

Nous avons précédemment reconnu que la culture BCG du quatrième passage n'était aucunement pathogène. Nous avons continué les expériences dans la même direction. Des cobayes ont reçu par voie intrapéritonéale, sous-cutanée, intracardiaque ou bien *per os*, 5 à 20 milligrammes de culture BCG de huitième génération. Ils sont restés en observation jusqu'à huit mois. Ceux qui ont été sacrifiés jusqu'au troisième mois présentaient localement les nodules habituels spécifiques, sans lésions évolutives. Plus tardivement, leur autopsie ne révélait aucune lésion spécifique.

Nous avons essayé d'exalter la virulence du BCG par inoculations successives dans les testicules du cobaye (selon Pétroff). Les doses injectées dans l'épaisseur de la glande étaient 1 milligr. 25 et 2 milligr. 5. Deux semaines après, les cobayes étaient sacrifiés. Ils présentaient, exclusivement dans le testicule inoculé, des lésions spécifiques avec bacilles acido-résistants. Ce testicule, broyé et émulsionné, était injecté de nouveau dans

un testicule d'un autre cobaye. Deux semaines plus tard l'opération était répétée. Les cobayes du troisième passage étaient sacrifiés après deux mois. Leur autopsie ne révélait aucune autre lésion spécifique que quelques cellules épithélioïdes et des cellules géantes. Les passages ultérieurs sont restés négatifs. Il n'a donc pas été possible d'exalter la virulence du BCG par inoculations intratesticulaires successives.

Nous avons étudié la treizième génération de passage du BCG du professeur Korchoune de Moscou et nous avons obtenu, seulement chez un cobaye, une tuberculose progressive et réinoculable. Mais la même souche n'a donné de lésions progressives ni chez les lapins, ni chez d'autres cobayes. Ayant dissocié cette souche, nous avons obtenu facilement des colonies des types R ou S, ou intermédiaires, toujours avirulentes. Aucune n'était virulente. Nous n'avons aucune raison d'admettre que ce seul cas de tuberculose progressive chez un cobaye soit réellement un argument en faveur de l'exaltation possible de la virulence de ce treizième passage de BCG. Nous continuons à étudier cette souche.

II. — DISSOCIATION DES SOUCHES DE BACILLES TUBERCULEUX ET DE BACILLES ACIDO-RÉSISTANTS.

Nous avons beaucoup étudié le phénomène de la dissociation des cultures de bacilles tuberculeux et de bacilles acido-résistants d'origines diverses. En employant la technique indiquée par S. A. Pétroff, nous avons isolé sur des boîtes de Pétri des colonies de cultures diverses à savoir :

- 1° *Thimotheebacillus* (fléole) ;
 - 2° B. du smegma ;
 - 3° B. tub. humain A.
 - 4° B. tub. bov. Vallée.
 - 5° B. tub. humain A exposé pendant 12 générations successives à l'action directe du radium.
 - 6° BCG.
 - 7° Mélange de BCG et de B. tub. hum. A dans la proportion de 50.000 à 1 ;
 - 8° Culture BCG contaminée par le B. tub. hum. A.
- Toutes ces cultures présentaient en boîtes de Pétri des colo-

nies du type morphologique dit R, d'autres du type S, et d'autres, enfin, de types intermédiaires entre R et S. Les colonies R et S, ultérieurement réensemencées, perdirent les caractères morphologiques qu'elles avaient présentés tout d'abord. On pouvait constater que les types R et S ne sont pas stables et qu'ils se transforment d'un type en l'autre.

Les émulsions de ces colonies isolées et âgées de trois, six à huit semaines, ont été injectées à des cobayes, par voie sous-cutanée. Les animaux ont été observés de un à sept mois. Leur autopsie a donné des résultats concordants et très intéressants. Tous les cobayes qui avaient reçu sous la peau les colonies des types R et S des souches de *Thimotheebacillus*, de B. du smegma ou de BCG n'ont présenté aucune lésion tuberculeuse. Au contraire, tous les cobayes qui avaient reçu sous la peau les colonies du type S ou R des souches tuberculeuses virulentes (b. tub. hum. A, b. tub. bov. Vallée, ou enfin b. tub. hum. A douzième génération soumise à l'action du radium) ont fourni des lésions tuberculeuses progressives. Ajoutons que tous ces cobayes sont morts dans les délais de deux mois et demi à six mois et demi. Enfin, les cobayes qui avaient reçu sous la peau les colonies R ou S de la souche BCG mélangée avec b. tub. hum. A, ou de la souche BCG contaminée en culture par b. tub. hum. A, présentaient à l'autopsie des lésions tuberculeuses évolutives, ou, chez certains, aucune lésion. Ces résultats ne dépendaient pas du type des colonies R ou S. Parfois les lésions tuberculeuses évolutives étaient assez minimes, mais les réinoculations de passages étaient toujours positives. Lorsqu'on dissociait l'émulsion BCG, artificiellement mélangée avec les bacilles virulents, on pouvait isoler facilement les colonies qui provoquaient chez les cobayes la tuberculose progressive, et la virulence de ces colonies isolées était indépendante de leur caractère morphologique.

Nous avons déterminé aussi la virulence de trois générations successives de cultures BCG isolées des colonies des types R et S, mais les résultats ont toujours été négatifs. Enfin nous avons fait chez le cobaye deux passages par voie intratesticulaire des colonies R et S de la culture BCG. Les animaux ont été observés de deux à sept mois et demi. Les résultats furent absolument négatifs.

Nous avons signalé déjà que, de la treizième génération de passage de BCG du professeur Korchoune, nous avons facilement isolé des colonies des types R, S et intermédiaires; *aucune n'était virulente.*

Il est nécessaire d'ajouter que nous n'avons aucun doute que nos types morphologiques R et S soient identiques à ceux de S. A. Pétroff, car nous les avons toujours comparés avec les photogrammes de cet auteur.

Ainsi : 1° Toute souche de b. tuberculeux ou de b. acido-résistants peut être très facilement dissociée en colonies de type R, S, ou intermédiaires ;

2° Le caractère morphologique des colonies est absolument indépendant de leur virulence ;

3° Les colonies R et S isolées des cultures virulentes sont virulentes ;

4° Les colonies S et R isolées des cultures avirulentes sont avirulentes ;

5° Dans les cultures mixtes (mélanges de BCG et de bacilles virulents) les colonies S et R sont tantôt avirulentes et tantôt virulentes ;

6° La culture BCG ne peut pas être dissociée en colonies virulentes et avirulentes : toutes les colonies R, S et intermédiaires sont constamment avirulentes ; les mêmes résultats ont été obtenus avec les cultures de passages de BCG ;

7° Enfin, il ne nous a pas été possible d'exalter, par passages intra-testiculaires chez le cobaye, la virulence des cultures BCG, non plus que celle des colonies isolées de ces cultures par dissociation.

Nous croyons que S. A. Pétroff tire de ses expériences des conclusions erronées. Il a probablement observé chez ses cobayes inoculés avec ses cultures de BCG dissociées, ou bien les lésions spécifiques temporaires que nous savons être provoquées habituellement par le BCG et qui disparaissent après un certain temps, et la cause de la mort des cobayes dans ces cas eût dû être strictement établie ; ou bien il a observé réellement des lésions spécifiques tuberculeuses, provoquées par des bacilles virulents qui avaient contaminé la culture pure de BCG originelle. C'est là du moins la conclusion que nous devons tirer de nos expériences.

III. — EXPÉRIENCE AVEC UN MÉLANGE D'ÉMULSION DE BCG ET DE BACILLES VIRULENTS.

Le plan de cette expérience était le suivant : on prépara les mélanges d'émulsions de BCG et de *b. tub. hum.* A dans le rapport de 50.000 BCG pour 1 A, puis de 20.000.000 à 1; puis de 100.000.000 à 1. On inocula ces mélanges aux cobayes de telle sorte que chaque cobaye reçut sous la peau, ou dans le péritoine, 10 milligrammes de BCG + 8.000 bacilles virulents A, ou 10 milligrammes de BCG + 20 bacilles virulents A, ou enfin 10 milligrammes de BCG + 4 bacilles virulents A. Les cobayes témoins reçurent seulement le BCG ou seulement les bacilles virulents A. Tous les animaux ont été observés de un mois et demi à huit mois, après quoi ils ont été sacrifiés, et les résultats de leur autopsie furent les suivants :

1° Les cobayes qui avaient reçu seulement le BCG ne présentèrent aucune lésion spécifique;

2° Ceux qui avaient reçu seulement les bacilles virulents même à la dose de 20 bacilles avaient des lésions de tuberculose progressive généralisée; ceux qui avaient reçu les bacilles virulents seulement à la dose de 4 bacilles avaient des lésions disséminées, généralement minimales, mais qui furent toutes réinoculables;

3° Les cobayes qui avaient reçu le mélange de 10 milligrammes de BCG + 8.000 bacilles virulents avaient une tuberculose généralisée; enfin ceux qui avaient reçu le mélange de 10 milligrammes de BCG + 20 ou bien + 4 bacilles virulents présentèrent des tubercules dispersés et toujours réinoculables. Ainsi, alors même que la dose infectante contenait, pour 100.000.000 de bacilles BCG, seulement 4 bacilles virulents, on trouvait toujours chez les cobayes des lésions de tuberculose progressives et réinoculables. Cela prouve que dans la souche BCG, sur 100.000.000 de bacilles avirulents, il ne se trouve pas même un seul bacille virulent.

Il nous paraît que ces résultats réfutent définitivement l'affirmation émise par S. A. Pétroff que, dans les cultures de BCG, existent simultanément, parmi le plus grand nombre de bacilles avirulents, quelques unités de bacilles virulents.

Nos expériences sur la dissociation des cultures et sur les effets des mélanges de BCG avec des bacilles humains virulents ont été effectuées sur plus de 200 cobayes.

IV. — SUR LES PROPRIÉTÉS VACCINANTES DU BCG.

Nous continuons à étudier cette question, mais nous pouvons rapporter ici quelques-unes de nos expériences.

On a injecté sous la peau 20 milligrammes de BCG à 34 cobayes, et un à deux mois après ils ont été infectés par voie sous-cutanée avec 0 milligr. 001 de b. bovins Vallée, en même temps que 16 témoins. Déjà deux mois après l'infection d'épreuve 8 témoins sacrifiés présentaient une tuberculose généralisée et les autres témoins commencèrent à succomber vers le quatrième mois après l'infection virulente. Au contraire, dans le lot des vaccinés, 15 cobayes sacrifiés deux, trois et quatre mois après l'infection d'épreuve ne présentèrent aucune lésion spécifique macroscopiquement visible; six autres cobayes vaccinés firent des lésions spécifiques localisées au ganglion voisin de la région inoculée. Cinq mois après l'infection d'épreuve, les cobayes vaccinés qui restaient (13) commencèrent à faire de la tuberculose généralisée : 8 sont morts du cinquième au sixième mois et 5 ont été sacrifiés sept mois après l'infection d'épreuve. Il n'y a aucun doute que la vaccination par le BCG a conféré aux cobayes vaccinés, comparativement aux témoins, une résistance manifeste contre l'infection d'épreuve.

Nous avons en outre fait une quatrième série d'inoculations expérimentales chez les bovidés. 8 bovidés ont été inoculés sous la peau avec 50 milligrammes de BCG et, sept mois après la vaccination, ils ont été infectés par voie intraveineuse par 5 milligrammes des souches n° 67 et n° 159 (très virulentes), en même temps que 5 témoins.

Voici les résultats : 5 témoins sont morts de tuberculose du vingt-troisième au trente-troisième jour après l'infection d'épreuve.

Parmi les vaccinés 1 est mort le vingt-troisième jour, 5 le trente-sixième jour après l'infection d'épreuve, et seulement 2 survécurent et firent une forme chronique de tuberculose. Les résultats de cette expérience montrent que le succès de la vac-

cination expérimentale doit dépendre, non seulement des qualités du vaccin BCG, mais surtout des conditions de l'infection, des mode et dose d'épreuve, race, âge, état d'entretien des animaux, etc. Mais de tels échecs de la vaccination expérimentale ne peuvent en aucune manière permettre de contester la valeur pratique de la méthode. Nous vaccinons maintenant les bovidés dans les exploitations rurales et nous en avons déjà en observation plus de 4.000.

En ce qui concerne la vaccination des enfants, au 4^{er} juin 1930 nous avons vacciné environ 4.500 enfants parmi lesquels 300 ne sont pas en contact, mais tous les autres sont dans des familles tuberculeuses. Nous n'avons observé aucun accident parmi tous ces enfants vaccinés. La mortalité générale des vaccinés est de 7 à 8 p. 100, alors que, pour les témoins placés dans les mêmes conditions, elle est de 9 à 10 p. 100. La mortalité tuberculeuse parmi les vaccinés en contact jusqu'à la fin de leur première année est de 2 à 3 p. 100, alors que parmi les témoins dans les mêmes conditions de contact elle est de 15 à 16 p. 100.

Nos résultats prouvent une fois de plus la stabilité des propriétés biologiques de la souche BCG et l'innocuité constante de la méthode de vaccination basée sur son emploi. Son efficacité préventive est, à notre avis, tout aussi évidente; néanmoins à ce sujet nous poursuivons notre travail.

Nous estimons que la question de l'innocuité du BCG est désormais assez établie pour ne plus laisser subsister aucun doute.

UN BACILLE DES GANGRÈNES CUTANÉES

par R. NATIVELLE.

(Travail du Service de M. Milian, à l'hôpital Saint-Louis
et du Laboratoire de M. le professeur Weinberg,
à l'Institut Pasteur.)

L'étude bactériologique des gangrènes cutanées peut être très schématiquement scindée en deux grands groupes : les gangrènes étendues vers la profondeur dans lesquelles l'élément cutané est accessoire, la lésion est avant tout musculaire et relève la plupart du temps d'infections dues aux microbes anaérobies, et les gangrènes strictement cutanées qui peuvent s'étendre indéfiniment en surface mais pas en profondeur.

Dans ce groupe, les germes les plus divers ont été décrits, parmi lesquels il faut mettre au premier plan le streptocoque, le *B. coli*, le *B. proteus vulgaris*, le *B. pyocyanique*, l'association fusospirillaire.

Accessoirement un bacille diphtéroïde, divers bacilles anaérobies et en particulier le *B. perfringens* ont été trouvés dans de nombreuses lésions et rendus responsables de ces gangrènes.

Mais aucun de ces travaux bactériologiques ne mentionne la reproduction expérimentale de ces lésions escarrotiques.

Milian fut le premier à montrer à la fois la fréquence d'un bacille qu'il décrivit sous le nom de *bacillus gangrenæ cutis*, et le rôle pathogène de ce germe à l'état pur.

Ce bacille se rencontre avec une fréquence extrême dans les gangrènes cutanées primitives ou secondaires à des lésions bulleuses, phlycténulaires ou même simplement purpuriques, dans les gangrènes génitales, dans les ulcères de jambes avec bourgeons sphacéliques, dans les diverses escarres cutanées.

Le type de ces gangrènes est fourni par la figure 1. Dans 14 cas de gangrènes de la peau, nous avons réussi à isoler ce bacille et à reproduire expérimentalement sur le lapin ou le cobaye des escarres par inoculation sous-cutanée de cultures pures de ce germe.

1. — ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE.

I. CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Le bacille est un petit bâtonnet droit à bouts arrondis; il mesure 2 à 4 μ de longueur



FIG. 1. — Observation VI. Gangrène cutanée primitive. (Photo Schaller.)
Musée des photographies de l'Hôpital Saint-Louis.

sur 0 μ 6 à 0 μ 7 de largeur. Très fréquemment, surtout dans les formes jeunes, après culture en bouillon, il prend l'aspect de bacille en navette, ou de cocco-bacille, avec un centre clair comme le bacille de Yersin ou les pasteurelles; mais souvent, dans les cultures en bouillon datant de plusieurs jours ou en gélose Veillon, on trouve des formes filamenteuses très longues

dépassant parfois le champ du microscope ; quelquefois encore, mais plus rarement, il forme de courtes chaînettes.

Coloration. — Le bacille se colore aisément par les solutions basiques d'aniline : la coloration bipolaire apparaît très nettement avec la thionine phéniquée, ou la solution de Ziehl diluée. Il ne garde pas la coloration de Gram. Quelquefois, au lieu d'avoir un espace clair central, il a plusieurs espaces clairs.

Mobilité et cils vibratiles. — La mobilité du bacille est très variable. Parfois, il se déplace à peine ; et nous avons cru avoir affaire à un bacille immobile ; cependant, en ayant soin de faire quelques passages sur bouillon pour les souches primitivement immobiles, nous avons constaté que toutes les souches étudiées sont mobiles. Cette mobilité n'est jamais très accentuée ; jamais le bacille ne subit de mouvements brusques de translation dans tout le champ du microscope comme un bacille typhique par exemple ; la plupart du temps, il est animé *in situ* de petits mouvements de vibration, d'oscillation et de giration ; il semble surtout culbuter sur lui-même.

Les cils sont très nombreux ; ils paraissent couvrir toute la surface du microbe ; ils semblent également assez fragiles : un très grand nombre de cils sont détachés. Leur longueur est très grande ; ces cils toujours très flexueux et ondulés sont trois à quatre fois plus longs que le bacille proprement dit ; très souvent, ils sont enchevêtrés en un réseau inextricable.

Nous n'avons jamais trouvé de formes sporulées.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — *Conditions de culture.* — Le *Bacillus gangrenæ cutis* (Milian) est facultativement anaérobie, aérobie de prédilection ; il pousse très facilement sur tous les milieux usuels.

La culture peut se développer à basse température, même à la température du laboratoire ; elle est un peu moins rapide qu'à l'étuve ; elle est nette surtout au bout de quarante-huit heures. A l'étuve à 37°, le bouillon commence à se troubler dès la sixième ou la septième heure. Le bacille est détruit en quarante-cinq secondes par immersion dans l'eau bouillante. Chauffé pendant une heure à 56° il résiste, mais il est tué à 58°. Il est détruit dans une solution de formol à 1 p. 500, dans une

TABLEAU I. — Caractères principaux

SOUCHES	ORIGINE	GÉLOSE cultures grimpantes	GÉLATINE	LAIT	GÉLOSE GLUCOSÉE tournesolée	GÉLOSE LACTOSÉE tournesolée	GÉLOSE MALTOSE tournesolée	GÉLOSE GALACTOSÉE tournesolée
1	Septicémie consécutive à gangrène cutanée.	+	Culture en clou.	Non attaqué.	+	0	+	+
2	Gangrène de la verge.	++	Liquéfiée.	Digéré.	+	0	0	+
3	Gangrène cutanée consécutive à une maladie de Duhring.	++	Liquéfiée.	Coagulé puis digéré.	+	0	0	0
4	Escarre de la paroi abdominale.	++	Liquéfiée.	Digéré lentement.	+	0	0	+
5	Purpura, phlyctènes et escarres de jambe.	+	Culture en clou.	Digéré.	+	0	0	0
6	Gangrène cutanée primitive disséminée.	++	Liquéfiée.	Coagulé puis digéré.	+	0	0	+
7	Escarre sacrée.	+	Culture en clou.	Coagulé puis digéré.	+	+	+	+
8	Escarre sacrée.	0	Culture en clou.	Digéré.	+	+	+	+
9	Cancer cutané sphacélé sur ulcère de jambe.	0	Liquéfiée.	Digéré.	+	0	0	+
10	Ulcère de jambe.	++	Liquéfiée.	Digéré.	+	0	0	0
11	Ulcère de jambe.	0	Culture en feuille de fougère.	Non attaqué.	+	0	0	0
12	Ulcère de jambe.	++	Liquéfiée.	Coagulé puis digéré.	+	0	+	0
13	Ulcère de jambe.	++	Liquéfiée.	Digéré.	+	0	0	+
14	Ulcère aigu de jambe.	+	Liquéfiée.	Non attaqué.	+	0	+	+

différentes souches.

GÉLOSE LÉVULOSÉE tournesolée	GÉLOSE GLYCÉRINÉE tournesolée	GÉLOSE au plomb	GÉLOSE au rouge neutre	INDOL	POUVOIR PATHOGÈNE (cobaye)	ASSOCIATIONS MICROBIENNES
+	+	Ne noircit pas.	Virage gaz.	0	Mort, septicémie.	En culture pure (hémoculture).
0	+	Ne noircit pas.	Virage gaz.	0	Escarre sans passage.	Streptocoque, staphylocoque, <i>B. cutis</i> .
0	+	Noircit.	Virage gaz.	0	Abcès, escarre après un passage.	Streptocoque.
0	+	Noircit.	Virage gaz.	0	Abcès, escarre après un passage.	Streptocoque, staphylocoque
+	+	Noircit.	Virage gaz.	0	Escarre sans passage.	Streptocoque, staphylocoque.
0	+	Noircit.	Virage gaz.	0	Escarre sans passage.	Streptocoque, <i>B. cutis</i> , <i>B. pyocyannique</i> .
+	+	Noircit.	Virage gaz.	+	Escarre sans passage.	Streptocoque.
+	+	Noircit.	Virage gaz.	0	Abcès, escarre après un passage.	Streptocoque.
0	+	Noircit.	Virage gaz.	+	Abcès, escarre après un passage.	Spirilles, streptocoque, <i>B. tertius</i> .
0	+	Noircit.	Virage gaz.	0	Abcès, escarre après un passage.	Streptocoque pyocyannique, <i>B. perfringens</i> .
+	+	Noircit.	Virage gaz.	+	Escarre sans passage.	<i>B. pyocyannique</i> , streptocoque.
0	+	Ne noircit pas.	Virage gaz.	0	Escarre sans passage.	<i>B. pyocyannique</i> , streptocoque.
0	+	Noircit.	Virage gaz.	0	Escarre sans passage.	Streptocoque, staphylocoque.
0	+	Noircit.	Virage gaz.	+	Escarre sans passage.	Streptocoque.

solution de sublimé à 1 p. 1.000 ; le sulfate d'orthoxyquinoléine à 2 p. 10.000 tue le bacille.

Bouillon simple. — En vingt-quatre heures, la culture est extrêmement abondante et se caractérise par un trouble uniforme, épais ; un anneau se forme à la partie supérieure et un dépôt notable au fond du tube. Par agitation, des ondes moirées se dessinent. La culture dégage une odeur extrêmement fétide rappelant les gangrènes putrides. Cette fétidité peut disparaître



FIG. 2. — Culture en bouillon de vingt-quatre heures. (Photo Jeantet.)
Grossissement : 1.850.

plus ou moins complètement après de nombreux passages sur bouillon ; mais, dans les premières cultures, ce caractère de fétidité extrême paraît constant.

Parfois, surtout au bout de deux ou trois jours d'éluve, il se forme à la surface du liquide une épaisse pellicule grisâtre.

Dans les cultures de quinze à vingt jours, le liquide s'éclaircit légèrement et le dépôt est considérable ; les cultures de plusieurs mois ne s'éclaircissent pas entièrement.

Bouillon glucosé. — La culture est aussi abondante que sur bouillon simple.

Gélose inclinée. — Le bacille pousse très abondamment, formant un enduit blanchâtre à reflets irisés, assez épais, crémeux, mais il n'est nullement filant, ni gélatineux ; il envahit toute la surface de la gélose en vingt-quatre heures. Ensemencé dans l'eau de condensation, il monte en vingt-quatre heures jusqu'en haut de la gélose, tantôt en une couche uniforme, tantôt sous forme de strates superposées. Ce caractère n'est d'ailleurs pas constant : dans $1/3$ ou $1/4$ des cas, il n'a aucune tendance à

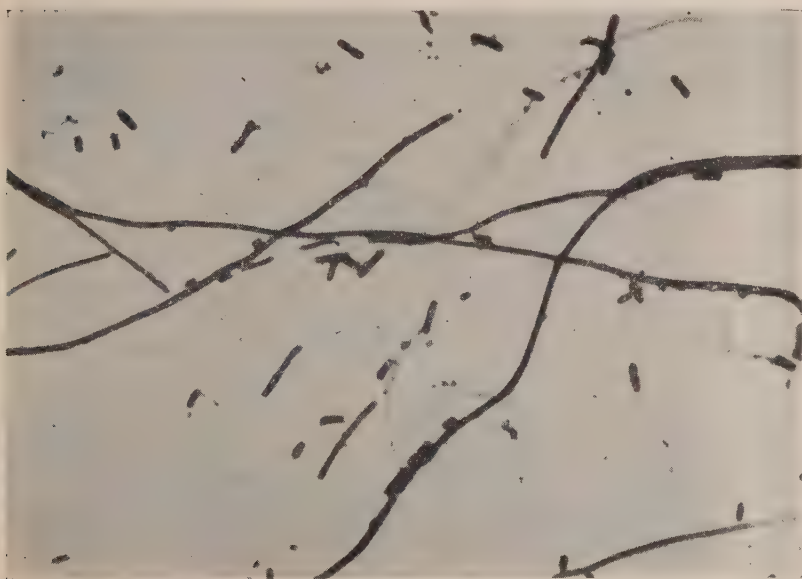


FIG. 3. — Culture en bouillon de quatre jours.

grimper le long de la gélose. Dans ce milieu l'odeur fétide est moins prononcée qu'en bouillon, cependant elle existe et se reconnaît même sans déboucher le tube.

Eau peptonée. — La culture est abondante et rapide.

Eau de levure. — Le bacille pousse abondamment en vingt-quatre heures.

Pomme de terre glycerinée. — La culture est abondante en quelques jours sous forme de trainée blanchâtre, épaisse et crémeuse ; il n'y a aucune modification de la coloration du milieu.

Bile. — La bile ne favorise pas mais n'empêche pas la culture.

III. MILIEUX ANAÉROBES. — Le bacille pousse abondamment à l'abri de l'air sur bouillon simple ou mieux sur bouillon glucosé à 2 p. 1.000. Il donne en vingt-quatre heures des cultures abondantes avec un dépôt important au fond du tube et dégage une odeur putride à l'ouverture du tube.

Gélose Veillon. — Le bacille donne des colonies nombreuses apparaissant en vingt-quatre heures dans toute la hauteur du tube. Ces colonies lenticulaires sont très finement arborescentes ;



FIG. 4. — Cils.

à la loupe elles sont revêtues d'un très fin duvet. Il n'y a pas de dégagement de gaz : la gélose n'est pas fragmentée.

Isolement. — L'isolement peut être aisément réalisé par deux procédés (en milieu aérobie et en milieu anaérobie).

Sur gélose inclinée il est très facile d'utiliser le procédé des cultures grimpantes en ensemençant le pus très dilué dans l'eau de condensation ; au bout de vingt-quatre heures il suffit de repiquer la partie supérieure de cette gélose pour avoir une culture pure. Ce procédé est pratique, mais il ne permet pas d'éliminer les autres bacilles possédant la propriété de donner des cultures grimpantes.

Aussi nous avons préféré la technique d'isolement préconisée par M. Weinberg pour un certain nombre de microbes aérobies, mais anaérobies facultatifs : en ensemençant une culture très diluée sur un grand nombre de géloses profondes il est très facile d'obtenir en vingt-quatre heures des colonies isolées et d'ensemencer les milieux usuels pour avoir des cultures pures.

IV. VITALITÉ. — La vitalité du bacille est très grande. Il vit plusieurs mois dans les cultures : nous avons pu repiquer des cultures vieilles de huit à dix mois venant de bouillon, conservées à la température du laboratoire dans des tubes fermés au coton. Les cultures sur gélose peuvent être repiquées après trois à quatre mois, même lorsqu'elles présentent un degré de dessiccation avancé.

V. ACTION SUR LES COMPOSÉS ORGANIQUES. — 1° *Production d'indol*. — La plupart des souches ne produisent pas d'indol en eau peptonée. Sur 14 souches étudiées, 4 seulement ont donné une réaction positive par le procédé d'Ehrlich.

2° *Propriétés protéolytiques*. — Les propriétés protéolytiques du bacille sont extrêmement variables. Tantôt ce pouvoir est considérable (souche II), tantôt il est nul. Dans la majorité des cas cependant, le pouvoir protéolytique est important et se manifeste surtout avec netteté vis-à-vis du lait et de la gélatine.

Gélatine. — Généralement, la liquéfaction est abondante et rapide. Dès la vingt-quatrième heure, après l'ensemencement par piqûre, il se forme un entonnoir de liquéfaction de coloration blanchâtre, très opaque. Puis, en deux à trois jours, cet entonnoir se transforme en un anneau complet de liquéfaction de 2 à 3 centimètres de hauteur occupant toute la zone supérieure. Enfin le tube entier peut être liquéfié en quatre à cinq jours. D'autres souches, au contraire, n'attaquent nullement la gélatine; elles s'y développent sous forme de cultures en clou ou d'arborisations en feuilles de fougère, et en restent à ce stade même après un mois ou deux de cultures.

Tous les intermédiaires existent entre ces deux types extrêmes. Sur gélatine inclinée, la culture est rapide, abondante et extensible et forme des cupules dans les zones d'ensemencement.

Lait. — Le lait est également attaqué de façons très diverses. Habituellement la caséine est attaquée très rapidement; parfois la coagulation se fait en vingt-quatre ou quarante-huit heures, mais la plupart du temps le lait est digéré sans avoir été coagulé; dans d'autres cas il y a coagulation en fins grumeaux, puis redissolution progressive du caillot. La réaction est alors neutre ou très légèrement alcaline. Cette digestion est d'une durée très variable; tantôt elle est complète en vingt-quatre ou quarante-huit heures, tantôt elle demande dix, quinze ou vingt jours. Enfin parfois le lait n'est nullement attaqué.

Sérum coagulé. — Le sérum coagulé est attaqué et digéré dans la majorité des cas. La liquéfaction commence à se manifester dès le deuxième ou le troisième jour; en tubes scellés la liquéfaction continue à se produire, et en quinze jours à un mois elle peut être complète.

Blanc d'œuf. — Le cube de blanc d'œuf est attaqué lentement et progressivement. En un mois il devient complètement transparent, il est légèrement ambré et aminci.

Bouillon viande. — En bouillon glucosé, additionné de viande, il se produit un noircissement plus ou moins intense suivant les souches.

En bouillon additionné de cerveau ou de foie, le noircissement est intense: il se forme à la surface du cerveau et du foie un véritable dépôt d'une substance noirâtre.

3° *Propriétés saccharolytiques.* — Les milieux sucrés sont également attaqués de façons très diverses. Cependant la fermentation du glucose et de la glycérine a été constatée dans les 14 cas étudiés. La fermentation du lactose n'a été observée que dans deux cas. Quant aux maltose, levulose, galactose, saccharose, ils ne sont pas virés habituellement, mais peuvent l'être par certaines souches; le virage reste définitif lorsqu'il s'est produit.

4° *Propriétés hémolytiques.* — Le bacille ne produit pas d'hémolysine dans les cultures en bouillon simple ou glucosé.

VI. ACTION RÉDUCTRICE. — *Gélose au rouge neutre.* — Le bacille est un réducteur énergique, le rouge neutre est toujours très rapidement réduit en vingt-quatre heures. Ce phéno-

mène s'accompagne d'un abondant dégagement de gaz qui fragmente la gélose, et d'une légère fluorescence.

Production d'hydrogène sulfuré. — Le bacille produit habituellement de l'hydrogène sulfuré et les géloses au plomb noircissent généralement, fortement et rapidement. Cependant, dans 3 cas sur 14, nous n'avons pas observé de noircissement de la gélose.

VII. POUVOIR PATHOGÈNE. — Toutes les souches étudiées se sont montrées pathogènes : 9 d'entre elles d'emblée dès la première inoculation ; les 5 autres n'ont été pathogènes qu'après un passage sur l'animal.

La virulence des souches est extrêmement variable : les unes en effet sont mortelles et rapidement mortelles quels que soient l'animal réactif et la voie d'administration : telle la souche I isolée par hémoculture chez un malade qui est mort quelques heures après de septicémie. D'autres souches, et ce sont de beaucoup les plus fréquentes, provoquent des escarres sèches, noirâtres, d'étendue variable, apparaissant plus ou moins rapidement. D'autres enfin produisent simplement des abcès qui s'enkystent et dans lesquels on trouve des polynucléaires en grande abondance avec des bacilles phagocytés à côté de bacilles extra-cellulaires. Au bout de quelques semaines certaines souches perdent définitivement tout pouvoir pathogène.

COBAYE. — La voie sous-cutanée constitue la voie d'inoculation de beaucoup la plus intéressante.

Après épilation de la paroi ventrale sur 2 ou 3 centimètres carrés, nous injectons généralement la dose de 1 cent. cube d'une culture pure de vingt-quatre heures en bouillon dans le tissu cellulaire sous-cutané. Habituellement dès le lendemain apparaissent au centre d'une zone tuméfiée, œdémateuse, des taches purpuriques de forme et d'étendue variables ; au milieu de ces taches purpuriques on entrevoit l'escarre en voie de formation (comme le montre la figure 5).

Au bout de quarante-huit heures l'œdème a disparu entièrement, mais l'escarre s'est formée (fig. 6) ; c'est une escarre sèche, noirâtre, bien délimitée, de 5 à 6 centimètres de

diamètre. Cette lésion reste en général purement locale : le cobaye conserve son aspect normal, il a le poil luisant, son poids reste identique. Peu à peu un sillon d'élimination se dessine; vers le huitième jour l'escarre tombe spontanément, laissant une ulcération légèrement purulente qui guérit en quinze jours à trois semaines. Telle est l'évolu-



FIG. 5. — Formation de l'escarre
vingt-quatre heures après inoculation sous-cutanée (cobaye).

tion habituelle des lésions, mais l'aspect est parfois différent

Dans certains cas il suffit de doses minimales : $1/4$, $1/10$ de centimètre cube pour produire des lésions analogues. Parfois les lésions anatomiques sont retardées et l'escarre n'apparaît que vers le quatrième, cinquième ou sixième jour.

Dans d'autres cas, au niveau de l'injection sous-cutanée on n'observe qu'un petit abcès donnant l'impression d'un petit nodule assez ferme, gros comme une petite noisette; cet abcès

peut rester à ce stade pendant plusieurs jours, même pendant plusieurs semaines avant de se résorber. Il suffit alors de le ponctionner aseptiquement pour retirer quelques gouttes de liquide qui, cultivées en bouillon pendant vingt-quatre heures, donnent une culture assez virulente pour produire une escarre



FIG. 6. — Escarre formée quarante-huit heures après l'inoculation sous-cutanée. (Photo Jeantet.)

typique. Lorsque cet abcès reste enkysté, il contient le bacille de la gangrène cutanée à l'état pur : après ouverture de l'abcès ou élimination de l'escarre, l'association de ce bacille au streptocoque est à peu près constante.

Dans quelques cas, l'injection sous-cutanée d'une culture de bacilles de la gangrène cutanée est suivie d'une légère réaction générale, mais qui a généralement disparu dès le lendemain.

Par voie intramusculaire. — Les réactions sont à peu

près identiques, mais elles gagnent lentement de proche en proche le tissu cellulaire sous-cutané et la peau; généralement, il n'existe qu'un empâtement diffus et profond. Quand les lésions évoluent vers le sphacèle de la peau, ce n'est que le quatrième ou cinquième jour, et l'escarre s'élimine normalement.

Dans un cas, où nous avons inoculé la dose massive de 3 cent. cubes de culture de la souche II dans la cuisse d'un cobaye, dans le but de voir si cette dose serait mortelle, nous avons constaté une escarre qui s'est étendue jusqu'aux pattes antérieures, mais sans réaction générale importante, et, malgré ces lésions étendues, le cobaye n'est pas mort.

Avec les germes isolés par hémoculture, ou après certains passages, les réactions sont très différentes : l'animal meurt avant qu'aucune lésion locale ne se soit manifestée. Quelques heures après l'injection on voit l'animal haletant, le poil hérissé, la respiration très rapide. Souvent, à ce tableau, s'ajoutent des paralysies plus ou moins complètes qui portent surtout sur les pattes postérieures immobilisées en extension spasmodique; et l'animal meurt généralement dans un délai de vingt-quatre à trente-six heures.

A l'autopsie, au niveau de l'inoculation, on trouve un gros œdème, une sérosité abondante légèrement rosée, mais non hémorragique, sans aucune lésion de sphacèle. Parfois, à l'ouverture de l'abdomen, il existe des lésions hémorragiques, l'exsudat péritonéal est sanguinolent et les viscères très rouges, la rate est un peu congestionnée, noirâtre, les poumons sont peu altérés, le péricarde souvent infiltré de sérosité, le sang du cœur contient le bacille à l'état pur. On le trouve sur frottis ou par hémoculture.

LAPIN. — Le lapin réagit plus énergiquement encore que le cobaye au bacille de la gangrène cutanée; parfois on obtient chez le lapin des escarres alors que le cobaye n'avait pas réagi et avec des doses moindres. Chez le lapin il est rare d'être obligé d'atteindre la dose de 1 cent. cube pour produire la gangrène; souvent quelques gouttes suffisent.

L'injection peut être faite par voie sous-cutanée et donner des résultats très nets, mais, avec les cultures virulentes, le résultat

est plus rapide et plus net encore par injection intradermique.

L'escarre est généralement beaucoup plus étendue chez le lapin que chez le cobaye (fig. 7); avec 1/4 de centimètre cube de culture de vingt-quatre heures en bouillon, à l'aide de la

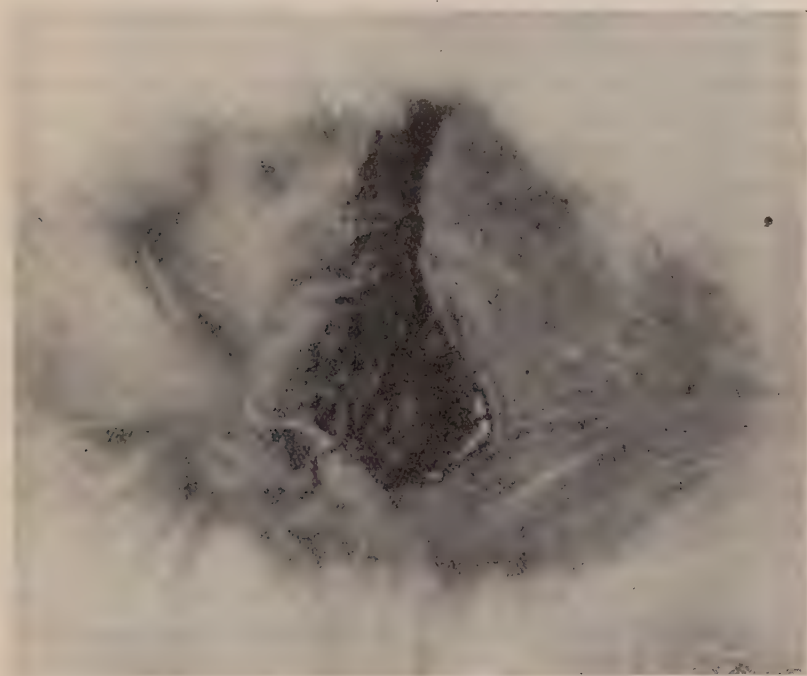


FIG. 7. — Escarre consécutive à l'inoculation de culture sous-cutanée (lapin).

souche II, nous avons obtenu des escarres de 10 centimètres de long sur 3 ou 4 de large.

Les réactions générales semblent également un peu plus vives que chez le cobaye. Quelquefois les souches de ce microbe provoquent des lésions à évolution extrêmement rapide.

Nous avons injecté par voie veineuse 1 cent. cube de culture I isolée d'une hémoculture; la mort est survenue en trente heures. L'autopsie a montré la présence d'un exsudat péritonéal sanguinolent, le foie était un peu gros, la rate congestionnée, le péricarde infiltré de sérosité; le bacille a été retrouvé dans le sang du cœur.

SOUSIS. — La souris est très sensible à l'action du bacille; d'une façon à peu près constante, avec la dose de 1/4 de centimètre cube en injection sous-cutanée la mort survient en vingt-quatre heures par septicémie : à l'autopsie, par ponction aseptique du cœur, le bacille se trouve aisément à l'état pur; malgré des passages nombreux sur la souris, nous ne sommes pas arrivé dans l'ensemble à exalter sensiblement la virulence des germes. Mais ce pouvoir permet cependant de doser la virulence des souches et le pouvoir anti-infectieux des sérums, alors que ce dosage est très difficile chez le lapin ou le cobaye.

Avec des doses moindres, ou avec des dilutions progressives de culture, la mort peut survenir beaucoup plus tardivement, plusieurs jours, voire même plusieurs semaines après; ou bien l'animal guérit.

Dans l'ensemble les lésions cutanées gangréneuses sont rares chez la souris; cependant le liquide injecté fuse parfois jusqu'à la paroi ventrale et provoque à ce niveau une escarre noirâtre identique à celle du lapin ou du cobaye.

VIII. TOXINE. — La toxine du bacille de la gangrène cutanée est habituellement peu active. Même à de fortes doses, elle ne produit généralement pas de réactions appréciables; nous avons, dans de nombreux cas, utilisé la toxine soit après simple centrifugation, soit après filtration sur bougie L_x : même à la dose de 5 cent. cubes injectés par voie intramusculaire chez le cobaye et à la dose de 3 cent. cubes injectés par voie intraveineuse chez le lapin, les réactions ont été nulles, alors que la culture totale tuait le cobaye à la dose de 2 cent. cubes par voie sous-cutanée; de même la souris résiste à une dose de 1 cent. cube de toxine filtrée, alors qu'elle succombe en vingt-quatre heures à la suite d'une injection de 1/10 de centimètre cube de la même culture totale.

L'endotoxine ne semble pas beaucoup plus active ni beaucoup plus pathogène chez le cobaye et le lapin qui résistent sans aucun symptôme pathologique à des doses élevées.

IX. VIRULENCE. — La virulence des souches du bacille que nous étudions est extrêmement variable. Les passages sur milieux nutritifs (gélose, bouillon simple ou glucosé) semblent

atténuer la virulence : les cultures repiquées de nombreuses fois donnent à la longue, non plus une escarre, mais un simple abcès enkysté. Par contre, le passage sur l'animal exalte généralement la virulence, tout au moins locale : nous avons vu qu'après isolement il faut souvent un passage par le cobaye ou le lapin pour produire l'escarre. Mais il est fréquemment très difficile d'exalter la virulence du bacille au point de rendre mortelle une souche qui primitivement donne seulement une escarre. Avec la souche II cependant, à l'aide de passages sur le lapin, il a été facile d'obtenir une culture tuant le lapin en quelques heures à la dose de 1/2 cent. cube. Mais avec la plupart des autres souches il a été impossible de tuer le lapin et le cobaye même en multipliant les passages, à l'aide de très fortes doses et en utilisant la voie veineuse.

Les souches vieilles de quelques mois qui ont perdu leur pouvoir pathogène le récupèrent rarement. Généralement, après le troisième ou quatrième passage sur l'animal, les cultures ne produisent même plus d'abcès enkysté; elles sont complètement résorbées en quatre ou cinq jours.

L'exaltation de la virulence par d'autres germes est rarement produite. En présence de la coexistence fréquente du streptocoque et du bacille de la gangrène cutanée, nous avons étudié à plusieurs reprises le pouvoir pathogène des deux germes isolés puis associés. Dans tous les cas, les escarres les plus nettes et les plus étendues étaient produites par les cultures pures de bacille de la gangrène; les cultures pures de streptocoque n'occasionnaient pas de lésions et les cultures mélangées du bacille et du coccus provoquaient des escarres petites et peu étendues.

Avec le *B. sporogenes*, nous avons, suivant la technique de MM. Weinberg et Otelesco, exalté la virulence du bacille. Nous avons injecté, dans la cuisse d'un cobaye, 3 cent. cubes de culture de vingt-quatre heures du bacille de la gangrène cutanée et 1 cent. cube de culture de *B. sporogenes*. Isolés, le premier produisait seulement une escarre, le second ne provoquait qu'un œdème passager. Réunis, ils entraînaient la mort de l'animal en vingt-quatre heures; à l'autopsie, la cuisse était le siège d'un œdème abondant, sanguinolent, gélatineux; le bacille de la gangrène existait seul sur les frottis; et dans le sang du cœur on le retrouvait seul, à l'exclusion du *B. sporogenes*.

Cependant, même après plusieurs passages identiques, le bacille de la gangrène isolé de nouveau n'était pas plus virulent



FIG. 8. — Infiltration massive au voisinage de l'ulcération produite sur la peau du lapin, quinze jours après inoculation de culture virulente. Absence de lésions d'artérite. (Photo Jeantet.) Grossissement : 90.

qu'avant et ne tuait pas le cobaye, même à la dose de 5 cent. cubes.

II. — ÉTUDE ANATOMO-PATHOLOGIQUE.

Nous avons pu pratiquer quelques autopsies de malades morts de septicémies dues au *bacillus gangrenæ cutis*. Locale-

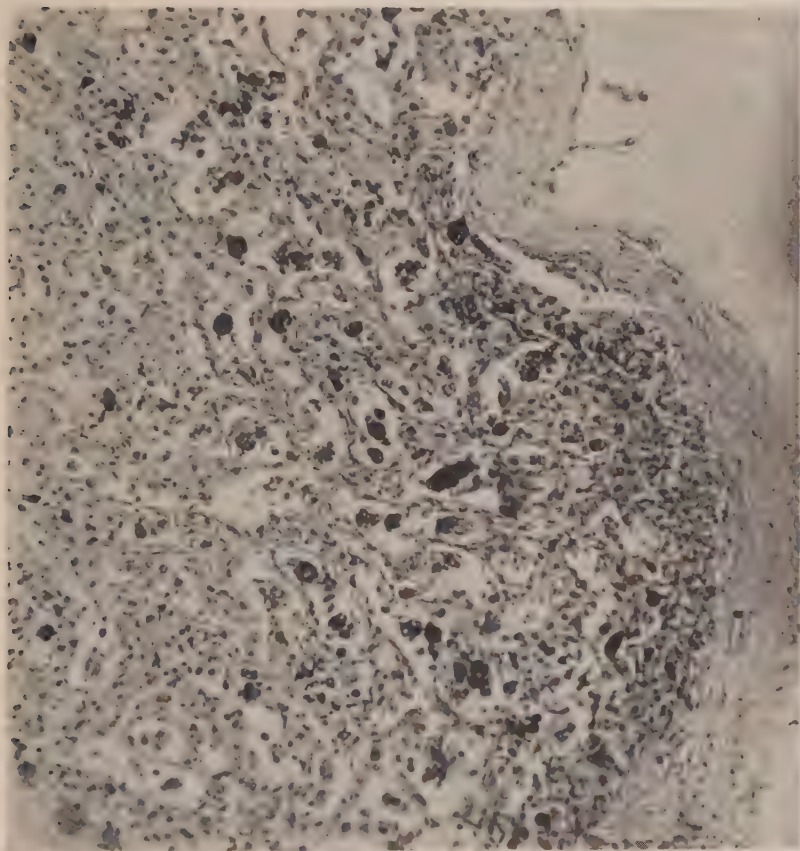


FIG. 9. — Taches pigmentaires dans la rate d'un lapin mort quinze jours après l'inoculation d'une culture virulente. Grossissement : 220.

ment le processus gangréneux et ulcéreux s'arrête en général aux couches superficielles et n'atteint jamais profondément le tissu musculaire. Les vaisseaux sous-jacents semblent macroscopiquement indemnes : en somme, l'anatomie pathologique permet de confirmer le diagnostic clinique ; ce processus gan-

gréneux reste superficiel : il s'étend à la peau en surface mais pas vers les plans profonds ; il ne semble pas s'accompagner de lésions importantes d'artérite.

Les lésions des organes sont relativement discrètes ; en aucun point on ne note de processus hémorragiques. Les poumons et le cœur sont peu altérés. Par contre, à l'examen de coupes du foie et de la rate, on constate d'une façon presque constante la présence de zones noirâtres disséminées.

Histologiquement. — A l'examen de coupes de la peau, on constate une infiltration massive mais qui s'arrête très rapidement et ne tend nullement à envahir les plans profonds ; on remarque l'intégrité à peu près absolue des artérioles.

L'examen au microscope de coupes de foie et de rate montre qu'il existe du pigment noir en très grande abondance (fig. 9).

Les lésions anatomiques macroscopiques et microscopiques de la peau et des organes sont à peu près identiques dans la gangrène expérimentale du cobaye et du lapin.

III. — ÉTUDE SÉROLOGIQUE.

Nous avons préparé des immunsérums de lapins par des méthodes diverses dans le but d'étudier les agglutinines, les anticorps spécifiques par la réaction de déviation du complément et enfin le pouvoir anti-infectieux.

Ces sérums ont été préparés soit avec des cultures chauffées une heure à 60°, soit avec des cultures tuées par addition de formol à 3 p. 1.000. Chaque lapin a reçu 6 injections intra-veineuses à cinq jours d'intervalle ; les 4 premières injections ont été de : 1/4 de centimètre cube, 1/2 cent. cube, 1 cent. cube et 1 cent. cube de cultures tuées ; les 2 dernières ont été faites avec 1 cent. cube de culture, en bouillon de vingt-quatre heures de bacilles vivants.

I. AGGLUTINATIONS. — Les agglutinations ont été faites par la méthode macroscopique, d'une part avec le sérum de malades atteints de gangrène cutanée, d'autre part avec le sérum d'animaux spécialement préparés. Habituellement, nous observons les résultats obtenus au bout d'une heure d'étuve ; quand ces

AGGLUTINATION

TABLEAU II. — Sérum préparé avec la souche II.

[illegible]

TABLEAU III. — Sérum préparé avec la souche VI.

[illegible]

résultats ne sont pas nets, nous laissons à l'étuve pendant quatre heures et à ce moment nous considérons les résultats comme définitifs.

Nous n'avons pas trouvé d'agglutinines spécifiques vis-à-vis du bacille de la gangrène cutanée dans le sérum de malades atteints d'infection gangréneuse (obs. II et VI).

Chez le lapin, le pouvoir agglutinant du sérum est souvent très élevé; ordinairement il atteint le $1/2.000$; un sérum préparé avec la souche II agglutinait même le microbe au $1/20.000$. Mais ce caractère reste en général strictement limité à la souche homologue, alors que les souches hétérologues ne sont pas même agglutinées au $1/25$; de même les agglutinations pratiquées avec différentes souches de *B. proteus*, *B. pyocyannique*, *B. coli*, restent pratiquement nulles.

Une seule fois une souche hétérologue a pu être agglutinée au $1/2.000$, comme le montre le tableau III; quelquefois l'agglutination atteint le $1/100$ ou $1/150$; mais en pratique ces agglutinations sont rares, inconstantes et ne peuvent en aucun cas être utilisées pour servir au diagnostic de l'espèce.

II. RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT. — Cette réaction est tout aussi limitée que la précédente : forte avec la souche homologue, la réaction est faible ou nulle avec les souches hétérologues et les souches de germes voisins.

Les réactions de déviation du complément ont été faites en utilisant des immunsérums de lapins, chauffés à 56° et comme antigènes des cultures en bouillon de vingt-quatre heures.

Avec les souches homologues, il n'est pas rare de voir des réactions positives avec des sérums dilués à $1/200$; dans un seul cas nous avons obtenu un résultat positif avec un sérum dilué à $1/50$ en présence d'une souche hétérologue (tableau V).

Chez l'homme nous n'avons pas réussi à obtenir de réactions de fixation du complément positives dans des cas de gangrène cutanée (obs. II et VI).

En résumé, ces résultats ne permettent pas de servir au diagnostic de l'espèce, ni même à l'individualisation de races sérologiques pas plus que l'agglutination.

RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÈMENT

TABLEAU IV. — Sérum préparé avec la souche II.

	SÉRUM pur	SÉRUM au 1/10	SÉRUM au 1/20	SÉRUM au 1/50	SÉRUM au 1/100	SÉRUM au 1/200
Souche II	+	+	+	+	+	0
Souche III	+	0	0	0	0	0
Souche XII	+	0	0	0	0	0
B. pyocyanique . .	+	0	0	0	0	0
B. proteus	0	0	0	0	0	0

TABLEAU V. — Sérum préparé avec la souche XII.

	SÉRUM pur	SÉRUM au 1/10	SÉRUM au 1/20	SÉRUM au 1/50	SÉRUM au 1/100	SÉRUM au 1/200
Souche XII	+	+	+	+	+	+
Souche II	0	0	0	0	0	0
Souche V	+	+	+	+	0	0
B. pyocyanique . .	0	0	0	0	0	0
B. proteus	0	0	0	0	0	0

III. POUVOIR ANTI-INFECTIEUX. — M. Milian est parvenu à obtenir un sérum de lapin antigangréneux spécifique vis-à-vis du bacille étudié; il a préservé et même guéri des lapins ayant reçu des doses mortelles de cultures pures de bacilles de la gangrène cutanée par l'injection sous-cutanée de sérums d'animaux immunisés.

Dans un cas où le lapin témoin était mort en quatre heures, un lapin de même poids fut guéri par l'injection sous-cutanée de 10 cent. cubes de sérum d'un lapin immunisé; cette injection avait été pratiquée une heure trois quarts après l'injection

septique intraveineuse. Ce résultat fut obtenu avec un sérum préparé avec la souche homologue.

Nous avons repris cette expérience sur la souris en utilisant une souche virulente et des sérums différents; nous avons pré-

TABLEAU VI. — Pouvoir anti-infectieux.

SOURIS	CULTURE souche VI en bouillon de 24 heures en cent. cube	SÉRUM	RÔLE PATHOGÈNE
1.	1/2	Sérum VI.	Aucune lésion.
2.	1/2	Sérum VI.	Aucune lésion.
3.	1/2	Sérum II.	Morte, 48 heures.
4.	1/2	Sérum II (préparé avec culture formolée).	Morte, 4 jours.
5.	1/2	Sérum II (préparé avec culture formolée).	Morte, 5 jours.
6.	1/2	Sérum XII.	Morte, 24 heures.
7.	1/2	Sérum XI.	Aucune lésion.
8.	1/2	Sérum XI.	Aucune lésion.
9.	1/2	Sérum pyocyanique (cas n° VI).	Morte, 7 jours.
10.	1/2	Sérum pyocyanique OA.	Morte, 24 heures.
11.	1/2	Sérum pyocyanique PeS.	Morte, 24 heures.
12.	1/2	0	Morte, 24 heures.
13.	1/2	0	Morte, 24 heures.

férent la souris à tout autre animal pour doser ce pouvoir pathogène et pour doser le pouvoir anti-infectieux de nos sérums, car les résultats sont beaucoup plus constants avec la souris.

La souche VI après trois passages sur souris tuait cet animal régulièrement en vingt-quatre heures à la dose de 1/4 de cen-

timètre cube. Nous avons utilisé la culture à la dose de 1/2 cent. cube après l'avoir mise en contact pendant une heure avec le sérum à étudier; les injections ont été faites par voie sous-cutanée (les résultats sont exposés au tableau VI).

En somme, de nombreux sérums préparés avec des bacilles de la gangrène cutanée ont un pouvoir anti-infectieux important puisqu'ils neutralisent des doses mortelles de cultures à doses égales. Par contre, nous n'avons pas réussi à empêcher la production de lésions locales gangréneuses escarrotiques chez le cobaye par inoculation simultanée ou consécutive de sérum et de culture pathogène.

IV. — ESSAI DE CHIMIOTHÉRAPIE.

Les résultats thérapeutiques obtenus chez une malade du Service de M. Ravaut, à l'hôpital Saint-Louis, par des injections intraveineuses d'arsénobenzol, alors qu'il n'existait pas de spirilles dans la plaie, nous ont incité, sur les conseils de M. Ravaut, à étudier expérimentalement l'action du 914 sur le bacille précédemment décrit.

Dans une première expérience, deux cobayes de même poids ont reçu chacun par voie sous-cutanée 1 cent. cube de la même culture en bouillon de vingt-quatre heures de bacilles (souche VI); l'un des deux a reçu aussitôt après par voie intraveineuse 1 centigramme de 914 dissous dans 1 cent. cube d'eau physiologique. Ce dernier a eu simplement un petit abcès enkysté, sans réaction inflammatoire de voisinage, alors que le témoin a présenté au bout de vingt-quatre heures des lésions purpuriques étendues, de l'œdème, de la rougeur et, au bout de quarante-huit heures, une escarre de 5 centimètres de diamètre.

Cette expérience fut renouvelée sur 40 cobayes avec le même succès.

Cependant il faut insister sur la nécessité de pratiquer les injections de 914 très lentement, sinon l'animal présente des accidents de shock et dans ce cas l'escarre se produit toujours; elle dépasse même, en étendue, l'escarre des cobayes témoins.

Sur le lapin, les résultats sont identiques. Dans un cas, avec

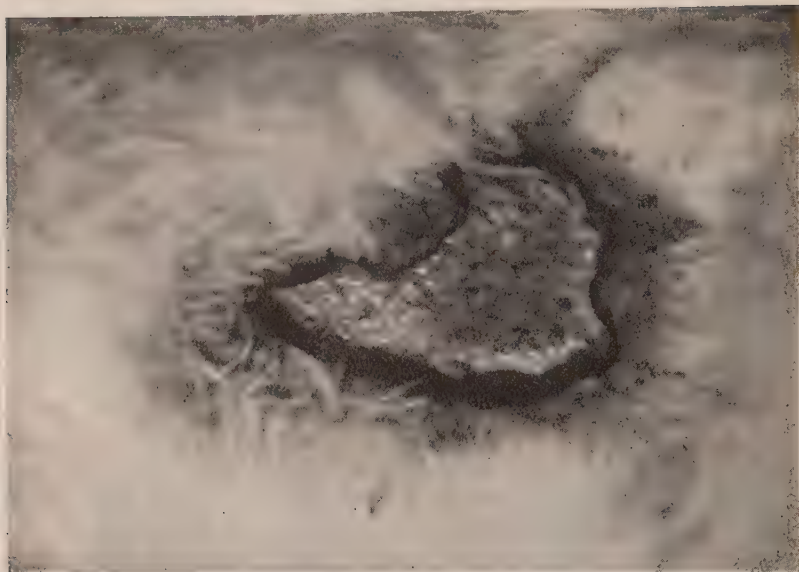


FIG. 10. — Lapin ayant reçu $\frac{3}{4}$ de centimètre cube de culture; sept jours après l'inoculation. L'escarre s'est éliminée et a laissé une ulcération.

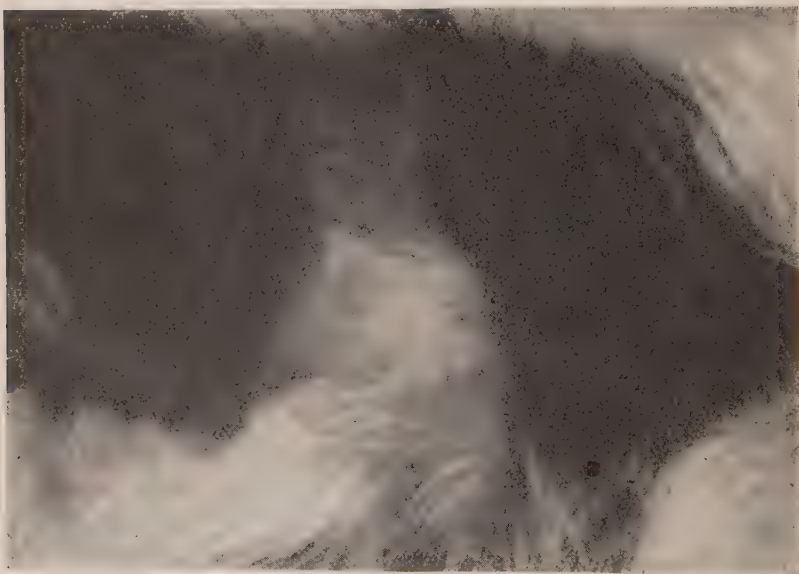


FIG. 11. — Lapin ayant reçu $\frac{3}{4}$ de centimètre cube de la même culture, mais traité par l'arsénobenzol intra-veineux; sept jours après l'inoculation.

la même culture et la même dose : $3/4$ de centimètre cube, le lapin témoin de 2 kilogr. 800 a eu une escarre de 12 centimètres sur 6 centimètres (fig. 10) alors que l'autre lapin pesant 2 kilogr. 530 qui avait reçu par voie veineuse 2 centigr. 5 de 914 dissous dans 2 cent. cubes d'eau physiologique n'a présenté aucune escarre, ni même aucune lésion purpurique, tout s'est borné à un petit abcès enkysté (fig. 11).

Cette analogie entre les résultats cliniques et expérimentaux du traitement par l'arsénobenzol nous a semblé d'autant plus intéressante que, dans un cas comme dans l'autre, il n'existait pas de spirilles.

On ne peut donc pas admettre dans ces cas le rôle des spirilles pour expliquer la production de la gangrène, ni le rôle antispirillaire du 914 pour expliquer la guérison de ces gangrènes.

En réalité beaucoup de lésions gangréneuses sont liées à la présence du bacille décrit par M. Milian, elles sont améliorées par le 914, car le 914 agit directement sur ce bacille, comme le montrent les résultats expérimentaux.

D'autres bacilles d'ailleurs sont extrêmement sensibles à l'action de l'arsénobenzol, même *in vivo*, tel le bacille diphtérique qui reste cantonné parfois pendant de longues semaines dans le pharynx de certains porteurs de germes, et qui ne disparaît qu'à la suite d'attouchements à l'arsénobenzol (M. Ravaut).

V. — PLACE DU MICROBE DANS LA SYSTÉMATIQUE.

Le *Bacillus gangrenæ cutis* se rapproche par ses caractères cultureux du groupe des *B. proteus* et par son pouvoir pathogène du groupe des bacilles pyocyaniques et fluorescents.

Le *Bacillus proteus* présente, en effet, des caractères morphologiques et cultureux d'une analogie frappante à ceux du bacille de la gangrène cutanée. L'un et l'autre ont la forme d'un bâtonnet mobile ayant parfois l'apparence d'un cocco-bacille, ou dans d'autres cas l'aspect de longs filaments de $80\ \mu$ de longueur, et même davantage. Les cils péritriches nombreux et longs sont à peu près identiques.

La similitude des caractères cultureux est plus frappante

encore. Sur gélose, les 2 bacilles ont un caractère très particulier, qu'on a cru longtemps pathognomonique de l'espèce *proteus* : ils ont la faculté de grimper le long de la gélose, parfois même jusqu'en haut en vingt-quatre heures, en une couche homogène, ou plus habituellement en vagues concentriques. Cette culture grimpante constitue même, comme l'a montré Choukevitch, un procédé courant d'isolement du germe. Les cultures en bouillon ont le même aspect et une odeur putride assez analogue. Les pouvoirs protéolytique et saccharolytique sont à peu près les mêmes, et d'ailleurs assez variables d'une souche à l'autre.

L'absence habituelle de production d'indol ne constitue pas non plus un argument irréfutable contre l'hypothèse d'identité des 2 germes, puisqu'il existe des bacilles du type *proteus* ne donnant pas d'indol. De même, le pouvoir hémolytique du *B. proteus* n'est pas un caractère suffisant pour établir une différenciation absolue entre ces 2 germes.

Les caractères sérologiques ne permettent pas de solution du problème, car dans l'un et l'autre cas les sérums agglutinants sont presque toujours étroitement spécifiques ; ils limitent leur pouvoir à la souche homologue et ne donnent pas de caractères de groupes. Nous avons préparé dans ce but plusieurs sérums de lapins en partant de bacilles de la gangrène cutanée et de *B. proteus* isolés de l'intestin ou de plaies septiques ; tous les résultats avec des souches hétérologues ont été négatifs. Van Loghen, Baudet et de Groot ont montré cependant que les *B. proteus* ne donnant pas d'indol, qu'ils ont étudiés, sont agglutinés plus ou moins énergiquement mais d'une façon constante par les sérums préparés avec des bacilles anindologènes, tandis que les bacilles indologènes ne sont pas agglutinés par ces sérums.

La réaction de fixation du complément est également à peu près constamment négative quand on utilise comme antigène un *B. proteus*, et comme anticorps un sérum préparé avec un bacille de la gangrène cutanée ou inversement.

Les épreuves de neutralisation croisée ne nous ont pas davantage donné la solution du problème, et ne nous ont pas permis d'assimiler d'une façon certaine le bacille de la gangrène cutanée au *B. proteus*.

Enfin, nous avons voulu essayer de reproduire les lésions cutanées du bacille de M. Milian avec le *B. proteus*, pensant que cette identité des lésions constituerait un argument de plus en faveur de l'identité des 2 germes.

Nous avons essayé, à plusieurs reprises, avec différentes souches de *B. proteus*, de reproduire des escarres; nous n'y sommes jamais arrivé; d'ailleurs, d'après les descriptions classiques, d'après les travaux de MM. Lannelongue et Achard, de M. Albert Berthelot, le *B. proteus*, lorsqu'il est pathogène, donne des petits abcès ou entraîne la mort par septicémie avec ou sans localisations métastatiques; il ne cause pas d'escarre, tandis que le bacille de la gangrène cutanée en provoque constamment.

Le bacille pyocyanique, par contre, plus éloigné par ses caractères cultureux, se rapproche davantage du bacille de la gangrène cutanée par son pouvoir pathogène; plus virulent dans l'ensemble, le bacille pyocyanique entraîne souvent la mort du cobaye ou du lapin à la dose de 1/2 à 1 cent. cube par voie sous-cutanée; quand ce pouvoir pathogène s'atténue par vieillissement ou avec des souches moins virulentes, il est facile de reproduire la gangrène cutanée avec ces bacilles pyocyaniques. Souvent, en partant de colonies uniques en gélose profonde, isolées de pus de gangrène cutanée, nous avons trouvé un bacille Gram négatif que nous pensions être le bacille de la gangrène cutanée; inoculé à l'animal, il provoquait, en effet, une escarre typique; mais l'étude des caractères cultureux ne tardait pas à montrer que le bacille était un *B. pyocyanique* typique: le bouillon se recouvrait en deux ou trois jours d'un anneau bleu verdâtre caractéristique de l'espèce pyocyanique.

Ces observations nous ont conduit à étudier systématiquement tous les *B. pyocyaniques* isolés des gangrènes cutanées; avec toutes les souches étudiées (lorsqu'elles n'étaient pas très pathogènes et mortelles d'emblée), nous avons pu reproduire des gangrènes cutanées exactement identiques. Nous avons obtenu les mêmes lésions avec un *B. pyocyanique* isolé d'une appendicite gangréneuse (l'escarre sur le cobaye dépassait l'étendue d'une pièce de 5 francs: la dose de culture injectée avait été de 3/4 de centimètre cube).

L'analogie frappante du pouvoir pathogène des 2 germes nous a amené à étudier et à comparer les caractères culturaux et sérologiques des 2 germes et, dans ce but, nous avons préparé des sérums anti-pyocyaniques en partant de souches isolées des gangrènes et de *B. pyocyaniques* de diverses origines (appendicite, plaies). Nous avons préparé des sérums avec le

TABLEAU VII. — Agglutination.

	1/25	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1.000	1/2.000	1/5.000
Sérum préparé avec souche XII + culture souche XII	+	+	+	+	+	+	+	0
Sérum préparé avec souche XI + culture souche XI	+	+	+	+	+	+	+	+?
Sérum préparé avec <i>B. pyocyanique</i> OA + culture <i>B. pyocyanique</i> OA	+	+	+	+	+	+	+	+
Sérum préparé avec <i>B. pyocyanique</i> PeS + culture <i>B. pyocyanique</i> PeS	+	+	+	+	+	+	+	0
Sérum préparé avec souche XI + culture <i>B. pyocyanique</i> PeS	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum préparé avec <i>B. pyocyanique</i> OA + culture souche XII	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum préparé avec souche II + culture <i>B. proteus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0

B. pyocyanique et avec le bacille de la gangrène cutanée isolés de la même lésion (malade de l'observation VI).

Les agglutinines restent étroitement liées à la souche homologue (tableau VII).

Pensant qu'il pouvait s'agir de *B. pyocyaniques* ayant perdu leur pigment, nous avons pratiqué les diverses épreuves conseillées par Gessard : cultures en bouillon, en eau peptonée, sur gélose pepto-glycérinée, sur pomme de terre glycérinée. Aucune des souches étudiées n'a donné de pigment bleu, même après quatre mois d'attente. Sur eau peptonée, quelques cultures ont donné une teinte très légèrement verdâtre.

Nous avons également cultivé le bacille dans le milieu suivant pour chercher s'il ne pouvait pas récupérer un pigment fluorescent :

{	Succinate d'ammoniaque (en grammes)	3
	Phosphate de potasse, —	5
	Sulfate de magnésie, —	2,5
	Eau, en centimètres cubes	1.000

Aucune des souches n'a présenté de pigment fluorescent, même en additionnant la culture de quelques gouttes de soude.

TABEAU VIII. — Epreuve de sérum antiprotéasique.

TUBES	GÉLATINE en centimètres cubes	EAU PHYSIOLOGIQUE en centimètres cubes	TOXINE PURE filtrée de B. pyocyane en centimètre cube	TOXINE AU 1/10 de B. pyocyane en centimètre cube	TOXINE AU 1/20 de B. pyocyane en centimètre cube	SÉRUM PRÉPARÉ avec <i>Bacillus</i> <i>gangrenæ cutis</i> souche II en centimètre cube	SÉRUM antipyocyane en centimètre cube	SÉRUM antivibron septique en centimètre cube	RÉSULTATS après 24 heures d'étuve
1	2	1,6	0,5						Liquéfaction. Liquéfaction. Gel?
2	2	1		1					
3	2	1			1				
4	2	1,3	0,5			0,2			Gel. Gel. Gel.
5	2	0,8		1		0,2			
6	2	0,8			1	0,2			
7	2	1,3	0,5				0,2		Gel. Gel. Gel.
8	2	0,8		1			0,2		
9	1	0,8			1		0,2		
10	2	1,3	0,5					0,2	Liquéfaction. Liquéfaction. Gel?
11	2	0,8		1				0,2	
12	2	0,8			1			0,2	
13	2	2							Gel.
14	2	1,8				0,2			Gel. Gel. Gel.
15	2	1,8					0,2		
16	2	1,8						0,2	

Par contre, nous avons été frappé de l'odeur qui se dégagait ainsi de la culture et qui rappelait à s'y méprendre l'odeur du *B. pyocyane* en culture, ou dans les plaies.

Nous avons cherché également, comme le conseille Launoy, s'il ne s'agissait pas d'un bacille susceptible d'entrer dans

l'espèce pyocyanique par les épreuves du sérum antiprotéasique. Les résultats ont été assez inconstants ; cependant, dans quelques cas, les sérums préparés avec des bacilles de la gangrène cutanée et des bacilles pyocyaniques ont empêché le pouvoir protéasique de la toxine pyocyanique, alors que d'autres sérums, tel un sérum préparé avec un vibrion septique, ne s'opposaient pas à ce pouvoir (tableau VIII).

VI. — ROLE DU BACILLE ÉTUDIÉ DANS LES GANGRÈNES CUTANÉES.

De tous les travaux bactériologiques ayant rapport aux gangrènes cutanées, il résulte que seul le bacille de Milian permet de reproduire constamment et régulièrement des escarres sur le cobaye et le lapin.

Ce bacille semble donc bien responsable de l'élément sphacèle dans les diverses lésions observées.

Dans les gangrènes primitives, le bacille peut-il à lui seul expliquer toute la pathogénie du processus infectieux ? C'est peu probable ; il faudrait admettre alors une contamination massive par des bacilles virulents, analogue à celle que l'on réalise artificiellement par l'inoculation de cultures pures sous la peau de l'animal. Il semble plus probable d'admettre qu'il s'agit d'une infection secondaire à un processus ulcéreux méconnu, de même que dans les gangrènes consécutives à une dermatite ulcéreuse ou bulleuse le bacille de Milian se greffe secondairement sur des lésions préexistantes ; mais là encore il constitue un élément de gravité ; il semble transformer en lésion gangréneuse une lésion simplement ulcéreuse, qui peut dès lors s'étendre indéfiniment en surface et qui a peu de tendance spontanée à la guérison.

Un bel exemple de cette évolution est fourni par l'observation V.

Au stade initial de phlyctène, le streptocoque existe seul dans les bulles à l'examen direct et en culture ; au stade de nécrose, il est associé au bacille de la gangrène cutanée.

Ce bacille peut en outre occasionner une septicémie mortelle.

Dans les gangrènes génitales, qu'il s'agisse de la gangrène foudroyante telle que l'a décrite Fournier, ou qu'il s'agisse de gangrènes atténuées (tout au moins en ce qui concerne les

signes généraux), le *Bacillus gangrenæ cutis* paraît jouer un rôle très important; il y existe en très grande abondance et il est souvent très virulent. Pour M. Milian, qui s'est attaché depuis plusieurs années à l'étude de cette question, « la gangrène foudroyante des organes génitaux est une maladie idiopathique due à un germe idiopathique : le *Bacillus gangrenæ cutis* ».

Dans les ulcères de jambe, surtout dans les formes qui s'accompagnent de petites zones sphacéliques escarrotiques, ce bacille existe fréquemment; bien entendu il n'intervient qu'à titre d'infection secondaire, mais il contribue certainement pour une large part à l'évolution lente, traînante, indéfinie, de ces ulcères.

CONCLUSION.

1° Le bacille décrit par M. Milian, sous le nom de *Bacillus gangrenæ cutis*, se rencontre avec une extrême fréquence dans les gangrènes disséminées, primitives ou secondaires, de la peau, dans les gangrènes génitales, accessoirement dans les escarres de causes diverses et dans les ulcères de jambe.

2° Ce bacille est constamment pathogène localement pour le lapin et le cobaye. Par inoculation sous-cutanée de cultures pures, il produit des escarres sèches et noirâtres soit d'emblée, soit après un passage sur l'animal.

3° Le diagnostic en sera basé sur les caractères suivants : coccobacille faiblement mobile, Gram négatif, présentant souvent une coloration bipolaire, porteur de cils très longs et flexueux. En bouillon, il donne des cultures abondantes extrêmement fétides. Sur gélose, ensemencé dans l'eau de condensation, il grimpe jusqu'en haut de la surface inclinée en vingt-quatre heures. Anaérobie facultatif. Fortement protéolytique en général, il liquéfie la gélatine et digère le lait. Il attaque toujours la gélose glucosée tournesolée, ainsi que la gélose glycinée, et reste habituellement sans action sur la gélose lactosée tournesolée. Il ne donne généralement pas d'indol. Il n'est pas hémolytique *in vitro*, mais il est hémolytique *in vivo*. La gélose au rouge neutre est fragmentée et décolorée; la gélose au plomb noircit. Enfin le pouvoir pathogène expéri-

mental, par la reproduction d'escarres, constitue un gros appoint au diagnostic.

4° Par ses caractères cultureux, ce bacille doit être rapproché du groupe des *B. proteus*. Si par certains caractères, en particulier par le pouvoir pathogène expérimental, il présente des analogies avec le groupe des *B. pyocyaneques* et fluorescents, il n'en reste pas moins vrai qu'aucune souche n'a pu fournir de pigment bleu, ni même de pigment fluorescent; il semble, par conséquent, impossible de l'assimiler à un *B. pyocyaneque*. Il s'agit donc bien vraisemblablement d'une variété de *B. proteus*. Peut-être peut-on admettre un de ces nombreux cas de transformisme microbien, ce germe constituant une forme de transition entre ces deux groupes.

Les agglutinines et les sensibilisatrices sont habituellement rigoureusement spécifiques, propres à la souche envisagée et ne permettent pas de tirer de conclusions pour le diagnostic de l'espèce, ni même pour l'individualisation de races sérologiques. Les épreuves de neutralisation croisée sont également négatives.

5° Ce bacille doit être considéré la plupart du temps comme un germe d'infection secondaire, mais souvent responsable, à lui seul, de l'élément gangréneux des lésions qui, vraisemblablement, en resteraient au stade ulcéreux sans son intervention surajoutée.

Lorsqu'il est très virulent, il peut provoquer des septicémies mortelles.

6° Expérimentalement, la neutralisation du pouvoir infectieux peut être obtenue par un sérum spécifique préparé soit avec des microbes tués par chauffage, soit avec une culture formolée.

7° Les données expérimentales, en conformité avec les résultats thérapeutiques observés en clinique, ont montré que, même en l'absence de toute infection spirillaire surajoutée, l'arsénobenzol intraveineux a une action empêchante sur le développement de la gangrène cutanée et une action curatrice sur la gangrène constituée par neutralisation de l'action du bacille précédemment décrit.

**ACTION ANTAGONISTE DE L'ALEXINE
VIS-A-VIS DU PHÉNOMÈNE DE L'AGGLUTINATION.
SON MÉCANISME. SA VALEUR
COMME PREUVE
DE L'UNICITÉ DES ANTICORPS BACTÉRIENS**

par le Dr V. ANTHADSE.

(Institut bactériologique de Géorgie, Tiflis.)

Au cours de nos expériences avec des sérums frais de typhiques, nous avons eu, à maintes reprises, l'occasion de constater le fait, noté depuis longtemps, que le phénomène de l'agglutination se manifeste de la façon la plus complète et la mieux marquée non pas dans les premiers tubes, mais dans les tubes de la série contenant les quantités les plus faibles de sérum. Par exemple, dans les dilutions à $1/40$, $1/80$, $1/160$, $1/240$, l'agglutination est négative; et c'est seulement à partir de cette dilution qu'elle commence à se manifester.

Pour expliquer cet effet « paradoxal » (le « paradoxe » consiste en ce que le sérum agglutinant manifeste mieux son action floculante là où les agglutinines doivent se trouver en quantité moindre), on s'est fondé sur l'hypothèse de la concentration optimale des colloïdes en présence. La réaction d'agglutination serait le mieux caractérisée dans le tube à concentration optimale des colloïdes qui entrent en interaction, tandis que l'intensité et la plénitude de la réaction diminuent des deux côtés du point optimum. D'après une autre hypothèse, l'agglutinoïde, en perdant sa fonction zymogène, conserverait son récepteur et empêcherait l'agglutinine vraie de se fixer sur la cellule bactérienne.

Nous pensons que le phénomène observé est d'un ordre différent et que la concentration optimale des colloïdes, pas plus que les agglutinoïdes, ne peuvent être mis en cause dans les conditions de notre expérience.

Le premier phénomène qui attire notre attention est celui-ci : quand on pratique la réaction de Widal avec un sérum frais, les premiers tubes dans la rangée à concentration de sérum décroissante (dans nos cas, jusqu'à la dilution à 1/240, 1/320, 1/420), c'est-à-dire les tubes où l'agglutination fait défaut, sont nettement moins opaques que les tubes voisins et que le tube de contrôle. Cette clarification est plus ou moins marquée, mais les mélanges ne deviennent jamais limpides.

La comparaison des deux résultats : l'absence de toute action agglutinante et la clarification des émulsions dans les mêmes tubes nous amena à penser, d'accord avec l'hypothèse de Maurice Nicolle sur l'action antagoniste des effets de condensation — en l'absence du complément — et de décondensation — en présence de complément — d'un antigène donné par un seul et unique anticorps correspondant, que le complément des sérums frais devait exercer une action déterminante sur la marche de l'agglutination dans les premiers tubes de notre série.

Un cas particulier a servi de point de départ à nos recherches : une collaboratrice de notre Institut tomba malade au retour d'une expédition dans une contrée où sévissait une épidémie de fièvre typhoïde. Au septième jour de la maladie, nous pratiquâmes une prise de sang pour l'hémoculture et la réaction de Widal (avec T. A. B.).

Le sérum frais de la malade se montra négatif quant à l'agglutination vis-à-vis du bacille d'Eberth, du paratyphique A et du paratyphique B ; mais, dans la rangée des tubes contenant l'émulsion de bacilles d'Eberth, les premiers tubes (dil. 1/40 ; 1/80 ; 1/160 ; 1/240) se clarifièrent d'une façon telle, comparativement avec le tube de contrôle, que l'on crut avoir oublié d'y ajouter l'émulsion microbienne.

La réaction, répétée le même jour, ayant donné un résultat identique, nous fûmes conduit à admettre que le fait observé devait être en relation avec l'infection typhique (l'hémoculture donna du bacille d'Eberth en culture pure).

Il est important de noter que la réaction avait été pratiquée avec une émulsion microbienne relativement faible (250.000.000 de germes par centimètre cube). Mais la clarification obtenue était si marquée qu'on ne pouvait douter qu'il

s'agissait bien d'une action bactériolytique directe du sérum en présence de l'alexine.

Pour vérifier la lyse des corps microbiens, nous avons fait des étalements, sur gélose, d'une goutte de chacun de nos tubes. Contrairement à ce que nous attendions, les tubes 1, 2, 3 (c'est-à-dire les dilutions 1/40, 1/80, 1/120) donnèrent quelques colonies isolées, tandis que les dilutions suivantes et le tube de contrôle se montrèrent stériles. Pour expliquer ce fait, nous devons rappeler que l'eau salée à 0,85 p. 100 n'est pas isotonique aux corps bactériens. Le séjour de quelques heures à l'étuve d'une émulsion microbienne relativement fine en eau physiologique est suffisant, en effet, pour stériliser cette émulsion. Dans notre série, les premiers tubes contiennent du sérum qui joue le rôle de colloïde protecteur; la dilution progressive du sérum réduit, vers le quatrième ou le cinquième tube, son pouvoir protecteur à néant et c'est à partir de ce moment que l'action bactéricide de l'eau salée commence à se manifester. Il est à noter que, même dans le tube de contrôle ne contenant pas de trace de sérum, les microbes sont tués, mais non lysés, car la densité optique du tube de contrôle, avant et après la mise à l'étuve, reste invariable.

La principale preuve du rôle prépondérant de l'alexine dans ce phénomène ressort du fait qu'il suffit de chauffer à 56° pendant trente minutes le même sérum pour obtenir une agglutination marquée dans tous les tubes où, précédemment, l'émulsion se clarifiait, par suite de la bactériolyse.

Avec le sérum chauffé, les étalements sur gélose donnent une culture en nappe dans les tubes 1 et 2 et des colonies isolées, plus nombreuses que dans les tubes correspondants avec du sérum frais, actif.

En comparant les résultats des étalements sur gélose des deux séries de tubes (sérum frais et sérum inactivé) et en notant les différences possibles de densité optique entre certains d'entre eux, nous pouvons séparer l'action lytique du sérum examiné, en laissant de côté l'action microbicide banale de l'eau physiologique.

Un point nous paraissait nécessiter une étude approfondie : le rôle de la concentration variable de l'antigène en présence de l'anticorps en quantité fixe, invariable. Déjà, *a priori*, il est

à supposer que des émulsions microbiennes plus ou moins denses peuvent favoriser les manifestations de l'action spécifique du sérum, c'est-à-dire ses effets agglutinants ou ses effets lytiques.

Nous avons choisi trois concentrations :

1° Émulsion n° 1 (forte), à 2 milliards de corps bactériens par centimètre cube ;

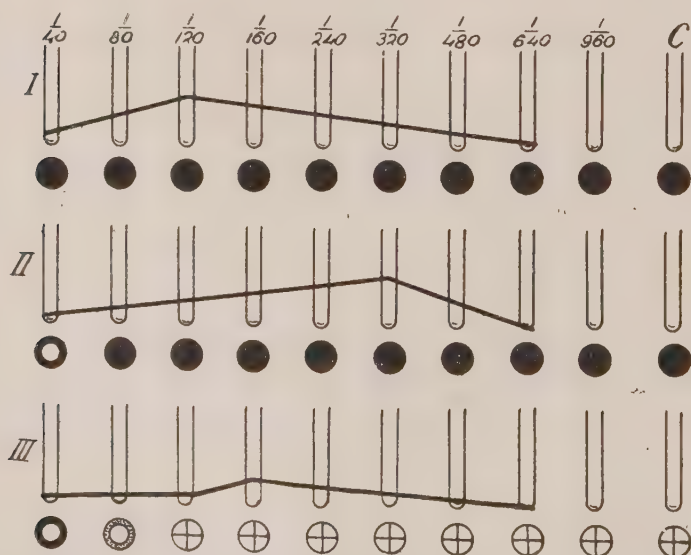
2° Émulsion n° 2 (moyenne), à 800 millions de corps bactériens par centimètre cube ;

3° Émulsion n° 3 (fine), à 40 millions de corps bactériens par centimètre cube.

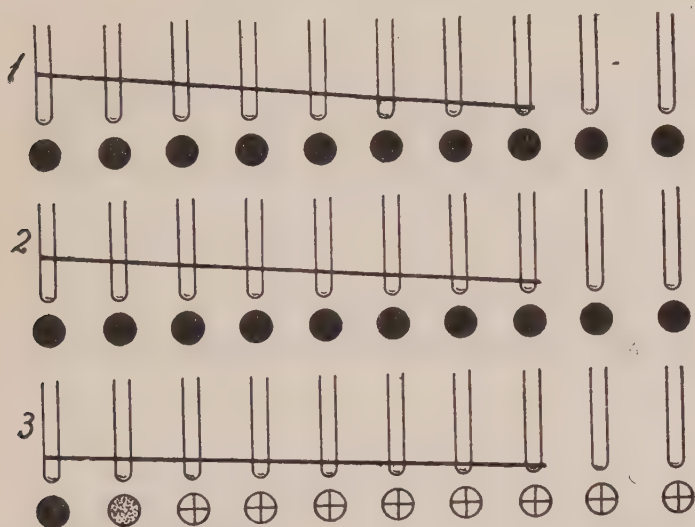
Le volume du liquide dans chaque tube était amené à 1 cent. cube par adjonction de 0 c. c. 5 de la dilution correspondante de sérum à 0 c. c. 5 d'émulsion microbienne, puis chacune de ces émulsions était mélangée avec deux séries de dilutions (de 1/40 à 1/1.000) de sérum frais et de sérum inactivé. Les portoirs étaient laissés pendant deux heures à l'étuve à 37° et la lecture définitive se faisait le lendemain.

Nous avons schématisé les résultats de plus de 50 expériences dans les trois tableaux qui suivent.

TABLEAU I.

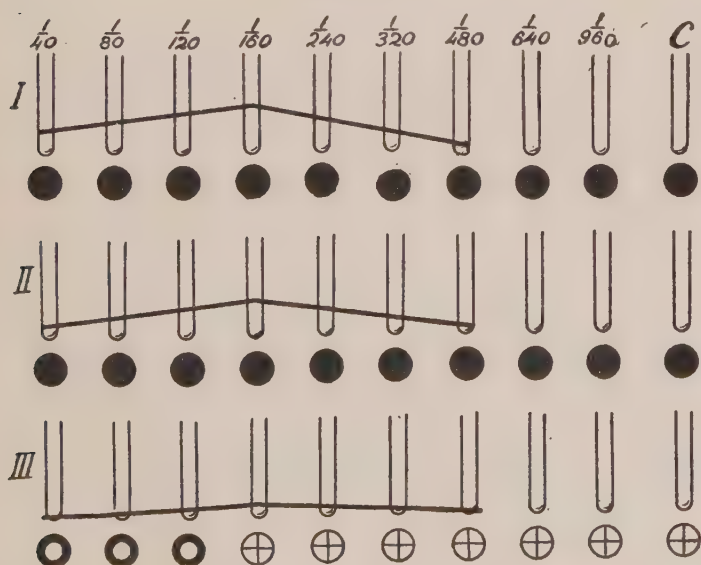


a) Expérience avec du sérum frais (n° 163) et trois émulsions microbiennes de concentration différente (I, épaisse; II, moyenne; III, fine).

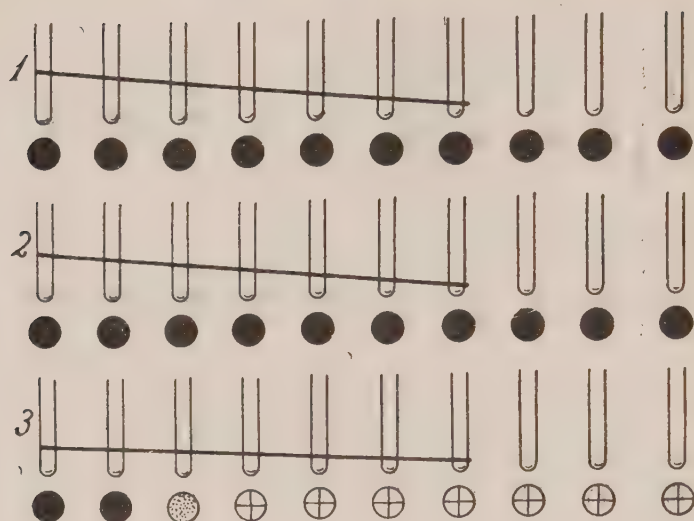


b) Expérience avec un sérum inactivé (n° 163) et trois émulsions microbiennes de concentration différente (1, épaisse; 2, moyenne; 3, fine).

TABLEAU II.

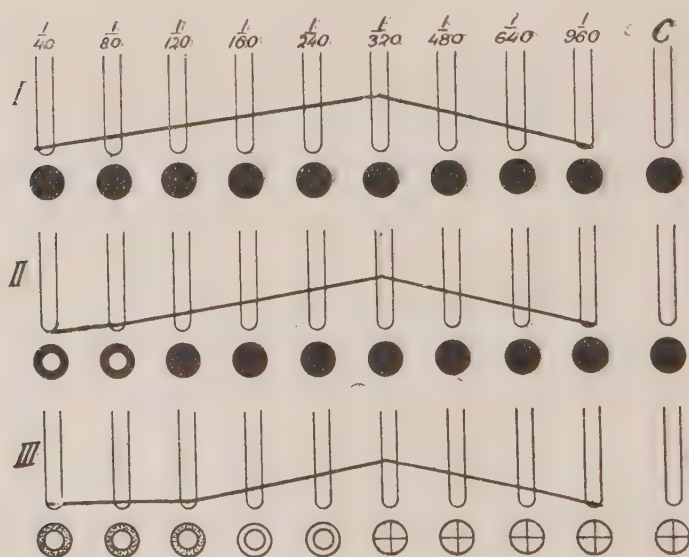


a) Expérience avec du sérum frais (n° 182) et trois émulsions microbiennes de concentration différente (I, épaisse; II, moyenne; III, fine).

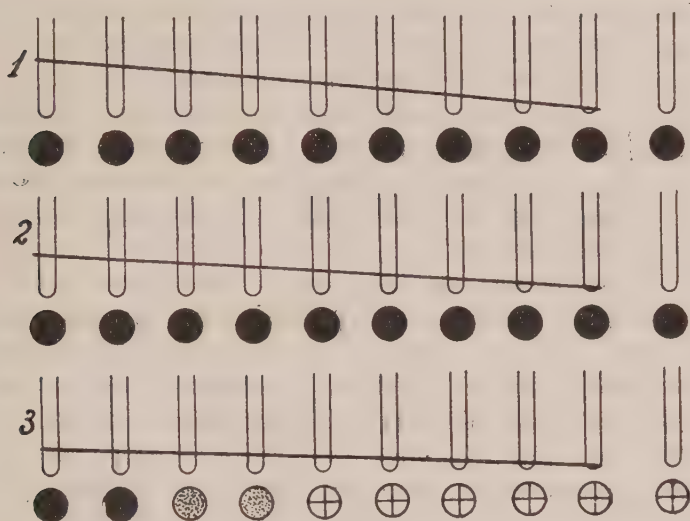


b) Expérience avec un sérum inactivé (n° 182) et trois émulsions microbiennes de concentration différente (1, épaisse; 2, moyenne; 3, fine).

TABEAU III.



a) Expérience avec du sérum frais (n° 165) et trois émulsions microbiennes de concentration différente (I, épaisse; II, moyenne; III, fine).



b) Expérience avec un sérum inactivé (n° 165) et trois émulsions microbiennes de concentration différente (1, épaisse; 2, moyenne; 3, fine).

Légende.

- a) Expérience avec du sérum frais.
 b) Expériences avec du sérum inactivé.
 I. Emulsion à 2 milliards de corps bactériens (forte).
 II. Emulsion à 800.000.000 de corps bactériens (moyenne).
 III. Emulsion à 40.000.000 de corps bactériens (fine).

- — Ligne de l'agglutination.
 ---- Ligne de la lyse.
 ● Développement en nappe.
 ● Développement en nappe, mais clarification de l'émulsion-mère.
 ● Développement en colonies isolées; clarification de l'émulsion-mère.
 ○ Développement en colonies isolées.
 ⊕ Pas de développement; clarification de l'émulsion-mère.
 ⊕ Pas de développement; pas de clarification.
 || Tube d'expérience.
 c
 || Tube témoin.

Ces résultats peuvent se résumer comme il suit :

I. Aucun des sérums frais ne donne la valeur maxima de la réaction dans les premiers tubes (à concentration de sérum forte), avec les diverses émulsions employées.

II. Dans les tubes à émulsion forte ou moyenne, la quantité de l'agglutinat augmente à partir des dilutions faibles de sérum vers les dilutions fortes; l'agglutination atteint son maximum aux dilutions comprises entre $1/120$ et $1/480$, puis elle décroît jusqu'à son titre limite.

III. L'agglutination avec une émulsion microbienne fine est tout autre : elle ne commence qu'à partir des tubes contenant les dilutions comprises entre $1/120$ et $1/480$ de sérum (le taux de la dilution varie avec la teneur en alexine de chaque sérum, mais il correspond toujours à l'agglutination optima de la série de l'émulsion concentrée) et elle décroît jusqu'à la limite du titre agglutinant du sérum en question. La clarification de l'émulsion et le résultat des ensemencements surgélose démontrent que l'absence d'agglutination dans les premiers tubes s'explique par la bactériolyse qui s'y exerce.

IV. Avec l'émulsion moyenne nous observons une clarification, mais bien moins marquée dans les 2 ou 3 premiers tubes.

V. L'émulsion forte ne donne pas de clarification visible à l'œil nu : cela résulte de ce que le déficit en corps microbiens, déterminé par l'action lytique des sérums, ne peut être optiquement perceptible dans ces conditions. Simultanément, nous remarquons le blocage de l'action agglutinante : les anticorps présents sont déviés par le complément vers l'action lytique, bien que celle-ci soit insuffisante pour provoquer une clarification notable de l'émulsion épaisse.

VI. Les sérums chauffés exercent leur action agglutinante maximum dans les premiers tubes, c'est-à-dire là où l'anticorps est le plus concentré, et cela indépendamment de la concentration de l'émulsion microbienne présente. L'agglutination se développe dans ce cas, suivant une ligne droite, qui s'abaisse régulièrement à partir du premier tube à concentration forte de sérum vers les tubes à concentration décroissante. Il existe donc un rapport direct entre le taux de l'agglutination et la quantité de sérum présente.

Il résulte de ces expériences que le complément joue, indubitablement, un rôle de premier plan dans les résultats « para-

doxaux » de la réaction d'agglutination obtenus avec les sérums spécifiques frais.

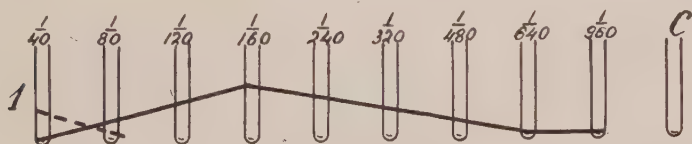
En vue d'étudier le mécanisme de l'action anti-agglutinante du complément, nous avons fait des expériences croisées avec des sérums frais, avec des sérums chauffés, avec des sérums chauffés additionnés de complément hétérogène et, enfin, avec ce même sérum dont le complément était « déplacé », c'est-à-dire qu'on ajoutait de l'alexine dans les tubes extrêmes de la série où elle avait disparu par dilution du sérum.

Nous rapportons les résultats de ces expériences dans les schémas qui suivent.

SÉRIE A.

I. Marche de l'agglutination et du phénomène de clarification avec du sérum frais de typhique.

Dilution : $1/40$; $1/80$; $1/120$; $1/160$; $1/240$; $1/320$; $1/480$; $1/640$; $1/960$.



Résultats : Clarification légère dans les deux premiers tubes. La courbe d'agglutination comporte deux phases : une phase ascendante, et une phase descendante qui s'abaisse jusqu'au taux final d'agglutination.

II. Même expérience, mais en ajoutant du complément hétérogène (complément de cobaye, dilué à $1/10$, 11 gouttes) aux tubes à partir de la dilution $1/240$.



Résultats : L'adjonction de complément aux tubes où l'agglutination se produisait régulièrement en son absence (le tube n° 4, de la dilution $1/160$, représentait le sommet de la courbe

agglutinative) fait disparaître toute trace d'agglutination et éclaircit les émulsions correspondantes. L'intensité et la direction de cette clarification sont indiquées sur le schéma par une ligne discontinue.

III. Sérum inactivé + I goutte d'alexine de cobaye à partir de la dilution à 1/240 :

1/40 ; 1/80 ; 1/120 ; 1/160 ; 1/240 ; 1/320 ; 1/480 ; 1/640 ; 1/960.



Nous voyons que la première partie de la courbe agglutinative change brusquement de direction : ce n'est plus de bas en haut qu'elle se dirige, mais de haut en bas ; et, fait plus important, la deuxième partie disparaît pour être remplacée par une ligne pointillée, qui indique l'apparition du phénomène de clarification. A noter que les deux lignes, qui expriment des phénomènes très différents, se continuent l'une l'autre : un même facteur agit sur toute leur étendue, c'est l'anticorps unique qui intervient, en l'absence de l'alexine, comme « agglutinine » et, en sa présence, comme « lysine ».

IV. On emploie le même sérum inactivé, mais l'alexine est ajoutée dans les premiers tubes de la série :

1/40 ; 1/80 ; 1/120 ; 1/160 ; 1/240 ; 1/320 ; 1/480 ; 1/640 ; 1/960.



Les résultats obtenus sont inverses : les lignes d'agglutination et de lyse se substituent l'une à l'autre.

V. Chaque tube de la série contenant du sérum inactivé reçoit une goutte d'alexine de cobaye.



Résultat : La courbe d'agglutination est remplacée par la courbe de clarification, dont la direction lui est parallèle. Malgré le parallélisme absolu des graphiques, la courbe exprimant la clarification a moins d'amplitude que la courbe d'agglutination.

Il était naturel de supposer que cette différence quantitative entre les phénomènes d'agglutination et de clarification tient à ce que, dans le second cas, l'alexine naturelle du sérum non chauffé n'est pas présente en quantité suffisante.

VI. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons fait une nouvelle expérience. Tous les tubes de la série contenant du sérum non chauffé (actif) reçoivent une goutte d'alexine.



La différence entre cette expérience et la précédente consiste en ce que dans les cinq premiers tubes de la série (zone de l'auto-complément) la clarification est plus accusée, plus complète ; dans les tubes suivants, la clarification a la même intensité dans les deux séries (nous avons vérifié que 1/20 de centimètre cube de sérum frais de cobaye contient suffisamment d'alexine pour fermer la chaîne spécifique là où elle existe dans nos tubes et que l'adjonction du complément en excès n'ajoute rien à la netteté des résultats).

Les expériences qui viennent d'être exposées démontrent que le phénomène de l'agglutination, en présence d'alexine, est remplacé par le phénomène de la clarification, et cela pour un même sérum ; l'agglutination ne débute que lorsque l'alexine disparaît par dilution ; d'où l'allure « paradoxale » de la réaction.

Dans les expériences qui suivent, nous avons voulu :

1° Éliminer le rôle éventuel du complément de cobaye comme facteur albumineux non spécifique ;

2° Étudier le comportement, dans des conditions identiques, d'un immunsérum inactif (vieux) expérimental de lapin.

VII. Sérum frais de malade (titre définitif $1/960$) + $1/20$ de centimètre cube de sérum de cobaye inactivé.



Même résultat que dans la série correspondante sans sérum de cobaye (expérience n° I).

VIII. Sérum chauffé de malade + $1/20$ de centimètre cube de sérum inactivé de cobaye.



Mêmes résultats que pour le sérum inactivé seul.

SÉRIE B.

EXPÉRIENCE n° I. — Immunsérum de lapin agglutinant le bacille typhique (titre définitif $1/4.000$).



La ligne d'agglutination se dirige de haut en bas : pas de « phase paradoxale » : absence de complément.

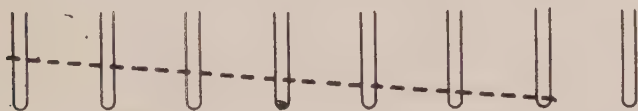
EXPÉRIENCE n° II. — Le même sérum + $1/20$ de centimètre cube d'alexine de cobaye :



Clarification nette dans tous les tubes, agglutination à peine visible jusqu'à la dilution à $1/3.200$. Cette agglutination insi-

gnifiante s'explique par l'insuffisance de la dose d'alexine, ce que prouve l'expérience suivante.

EXPÉRIENCE n° III. — Le même immunsérum de lapin + 1/10 de centimètre cube (II gouttes) d'alexine de cobaye :



La clarification est plus accusée que dans l'expérience précédente ; absence complète d'agglutination.

SÉRIE C.

Dans cette série d'expériences, nous nous sommes efforcé d'établir une technique qui permet d'évaluer facilement la puissance bactériolytique d'un immunsérum « agglutinant ».

Dans ce but, nous avons employé des émulsions excessivement fines (20 millions de corps microbiens par centimètre cube) de bacilles typhiques. Après cinq heures d'étuve, des étalements étaient pratiqués sur des tubes de gélose inclinée.

EXPÉRIENCE N° I.



L'étalement immédiat du tube témoin donne un développement en nappe ; l'étalement après cinq heures d'étuve du mélange provenant du tube n° 1 donne quelques colonies isolées ; les autres tubes, dont le tube témoin, sont stériles.

Traces d'agglutination.

Cette expérience met en évidence l'action bactéricide de la solution de NaCl, dite « physiologique », vis-à-vis des bactéries ; seul dans le tube n° 1 (dilution de sérum à 1/100) per-

sistent quelques bactéries, grâce à la présence d'une quantité suffisante de colloïde protecteur, en l'espèce, le sérum.

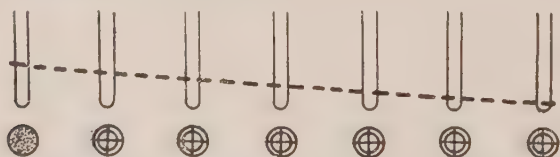
EXPÉRIENCE n° II. — Pour neutraliser l'effet bactéricide de l'eau physiologique nous ajoutons, dans la série de nos dilutions, 1/10 de centimètre cube de sérum de cobaye inactivé.



L'agglutination est très nette dans tous les tubes de la série : l'apport de l'albumine par le sérum de cobaye neutralise l'action bactéricide du NaCl et crée un milieu où les bactéries sont susceptibles de se développer.

L'antigène bactérien, dont la quantité est augmentée, floccule en rencontrant l'anticorps privé d'alexine.

EXPÉRIENCE n° III. — La même série reçoit, en plus, 1/10 de centimètre cube de sérum frais de cobaye ; après cinq heures d'étuve, étalement sur milieux solides.



Tous les tubes de gélose, sauf le premier, restent stériles : pas trace d'agglutination ; l'antigène est lysé.

Si l'on compare les expériences II et III, il apparaît clairement que la stérilité des étalements dans l'expérience II est due à l'action bactériolytique du complexe anticorps + alexine.

L'inhibition de l'agglutination par l'alexine et la substitution de la bactériolyse à la flocculation viennent appuyer l'hypothèse de l'existence d'un unique anticorps antimicrobien.

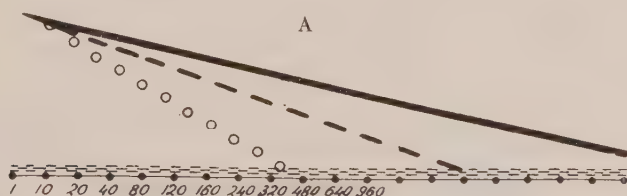
Mais, pour plus de clarté, il est nécessaire d'expliquer la divergence entre le titre bactériolytique et le titre agglutinant d'un même immunsérum. Il nous semble, avant tout, impos-

sible de comparer les titres obtenus par des méthodes aussi dissemblables que la réaction dénommée réaction de bactériolyse, un peu par abus de langage, et la réaction d'agglutination.

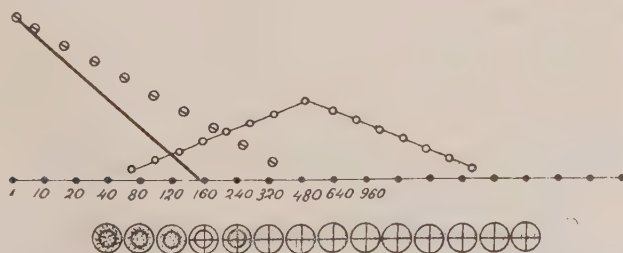
C'est le pouvoir bactériolytique direct, constatable par exemple au moyen de notre technique, que l'on doit comparer avec le pouvoir agglutinant d'un même sérum. On obtient ainsi des résultats parfaitement superposables : les écarts insignifiants observés s'expliquent aisément par les différences des facteurs en présence — action fermentative simple dans le cas de l'agglutination, action co-fermentative dans la bactériolyse, etc...

Dans les schémas qui suivent, nous donnons un graphique des facteurs en présence au cours des réactions d'agglutination et de bactériolyse, ainsi que des effets qu'ils produisent.

Les manifestations diverses et parfois contradictoires des facteurs qui interviennent : eau physiologique à 0,85 p. 100 tendant vers la stérilisation microbienne, sérum sanguin agissant comme colloïde protecteur, antagoniste de l'eau salée, comme vecteur d'anticorps spécifiques et, enfin, dans le cas de sérum non inactivé, comme porteur des facultés alexiques, trouvent ici, croyons-nous, leur explication.



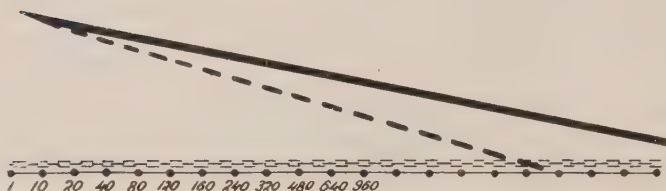
Facteurs en présence dans la réaction d'agglutination avec un sérum spécifique actif.



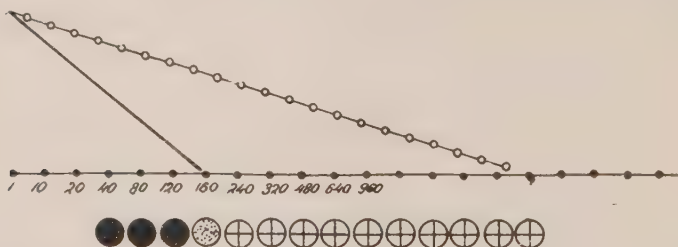
Effets produits par les facteurs indiqués dans le schéma n° 1 (A).

- Albumines du sérum.
- - - Anticorps spécifiques.
- ooo Complément (alexine).
- o-o-o Emulsion microbienne.
- Effet produit par les colloïdes de protection (albumines non spécifiques).
- ooo Bactériolyse.
- o-o-o Agglutination.
- ⊕ Colonies espacées au cours de l'étalement; clarification dans le tube.
- ⊕ Pas de développement; clarification.
- ⊕ Stérilité; pas de clarification.

B



Facteurs en présence au cours de la réaction d'agglutination avec un sérum spécifique *inactivé*.



Effets produits par les facteurs indiqués dans le schéma n° 1 (B).

- Albumines du sérum.
- - - Anticorps spécifiques.
- o-o-o Emulsion microbienne.
- o-o-o Agglutination.
- Effets de protection par les albumines non spécifiques.
- Développement en nappe.
- ⊕ Développement en colonies espacées.
- ⊕ Stérilité.

CONCLUSIONS.

1° Un anticorps unique est responsable de l'agglutination et de la bactériolyse spécifiques.

2° L'anticorps spécifique, en présence de l'alexine, provoque la bactériolyse.

3° Si le complément est présent en quantité suffisante, les propriétés lytiques du sérum se manifestent jusqu'aux dilutions terminales.

4° En cas de déficience de l'alexine, on observe une action double : une lyse partielle et une agglutination incomplète, produite par l'anticorps resté libre.

5° L'autoalexine paraît être plus active que l'hétéroalexine.

6° La technique employée par nous (émulsions très fines, 20 millions par centimètre cube de corps bactériens, ensemencements sur gélose inclinée des mélanges ayant séjourné cinq heures à l'étuve) permet d'utiliser la réaction de bactériolyse pour le diagnostic courant, concurremment avec la réaction de Widal.

7° L'action bactéricide de l'eau physiologique doit être compensée par l'introduction, dans toute la série des tubes, d'un colloïde protecteur. Nous avons employé 1/20 de centimètre cube de sérum de cobaye chauffé à 56° pendant trente minutes.

8° L'absence apparente de parallélisme entre les pouvoirs agglutinant et bactériolytique s'explique par ce fait qu'on apprécie habituellement la bactériolyse par une méthode détournée, celle de Bordet-Gengou. En employant la méthode que nous avons indiquée plus haut, on obtient des résultats pratiquement superposables.

9° L'alexine, antagoniste de l'action flocculante, peut masquer la réaction d'agglutination avec les sérums frais ; ce n'est que plus tard, quand le titre de l'anticorps commence à dépasser la limite d'action de l'alexine (l'isoalexine, dans nos expériences, peut se montrer active aux dilutions à 1/320 et même à 1/480), que l'agglutination se manifeste dans les derniers tubes de la série (agglutination dite « paradoxale »).

10° L'emploi des sérums actifs (surtout à des dilutions insignifiantes, qu'il est classique de voir conseillées dans tous les

traités : 1/25 ; 1/50 ; 1/100 ; 1/200 !), et d'émulsions microbiennes fines, ne devrait pas être admis pour la réaction d'agglutination courante.

11° L'inactivation à 56° durant trente minutes doit entrer dans la pratique de la réaction d'agglutination, si l'on ne veut pas passer à côté d'une réaction positive quand le titre agglutinant de sérum à examiner est faible (par exemple dans les premiers jours de la formation d'anticorps dans l'organisme du malade (1).

(1) Parmi les travaux parus depuis ma communication verbale du 2 novembre 1928 à la Société de Microbiologie de Géorgie et la présentation de ce mémoire, les notes de J. da Costa Cruz (*C. R. S. B.*, 100, n° 11) attirent particulièrement l'attention.

Je n'en retiens que les points les plus intéressants.

1° L'importance de la concentration de l'antigène en corps bactériens : les émulsions épaisses s'agglutinent plus vite et plus parfaitement que les émulsions fines (concordance avec mes résultats ; je ne vois pas d'autre explication plausible de ce fait que l'intervention de l'alexine...).

2° Par contre, J. da Costa Cruz indique que « l'aspect de l'agglutination par le sérum inactivé à 55° n'est certainement pas dû au manque d'alexine » ; nos expériences, rapportées dans les schémas de la série A (nos 2, 3, 4 et 5 spécialement), prouvent, il nous semble, que l'intervention — ou l'absence — de l'alexine suffisent pour expliquer les différences de l'action agglutinante des immunsérums.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU 270 FOURNEAU APPLIQUÉ AU TRAITEMENT DE LA TRYPANOSOMIASIE HUMAINE

par A. SICÉ.

(*Institut Pasteur de Brazzaville, A. E. F.*)

L'application du 270 Fourneau — sel sodique de l'acide acétyl-p-amino-o-oxyphényl-arsénique — au traitement de la trypanosomiasie humaine, causée par *Tr. gambiense*, a été tentée, pour la première fois, par J. Laigret, à l'Institut Pasteur de Brazzaville, en 1925.

Reprise, ici même, par G. Ledentu en collaboration avec J. Daude (1), puis M. Vaucel (2), elle a été poursuivie par nous.

Employé en solution, préparée extemporanément, au taux de 20 p. 100, dans de l'eau distillée stérilisée (il n'est pas aussi rapidement, ni aussi facilement soluble que la tryparsamide), le 270 Fourneau est administré aussi bien par la voie sous-cutanée que par la voie veineuse. Les doses, prescrites pour chacun des malades, sont calculées d'après le poids vif du sujet, passant, par progression continue, à des intervalles réguliers de sept jours, de 15 milligrammes à 30 ou 35 milligrammes par kilogramme.

De 1925 à 1929, un ensemble de 357 malades a été, de la sorte, traité, comprenant, d'une part, 106 malades, en première période, — au stade d'infection lymphatique et sanguine —, sans aucune atteinte du système cérébro-spinal et, d'autre part, 251 autres, en deuxième période, dont les centres nerveux n'avaient plus leur intégrité.

Ces deux groupes réagissent d'une façon différente à l'action du composé arsenical; il est donc utile d'en faire une étude distincte.

(1) G. LEDENTU et J. DAUDE, Essai de traitement de la trypanosomiasie humaine par le Fourneau 270. *Ces Annales*, 40, octobre 1926, p. 830.

(2) G. LEDENTU et M. VAUCEL, Note complémentaire sur le Fourneau 270 en trypanosomiasie humaine. *Ces Annales*, 41, novembre 1927, p. 1233.

PREMIÈRE PÉRIODE.

Infection lymphatique et sanguine.

Liquide céphalo-rachidien (0 à 5 cellules; 0,15 à 0,22 d'albumine).

Sous l'action du 270, les trypanosomes disparaissent rapidement du système lymphatique et de la circulation périphérique. Cette efficacité puissante a été constatée par tous ceux qui en ont fait usage. Van den Branden (1) la souligne dans ses essais de traitement.

106 malades s'offrent ici à l'observation : 97 n'avaient reçu aucun traitement différent; 9, ayant déjà subi les effets d'une autre thérapeutique et présentant, à nouveau, des trypanosomes, soit dans la lymphe, soit dans le sang, furent traités secondairement par le 270.

Le tableau I en montre la destinée.

TABLEAU I.

TRAITEMENT INITIAL		RECHUTES SANGUINES	ÉVOLUTIONS nerveuses	DISPARUS	DÉCÈS	GUÉRISONS vraisemblables
Par un autre agent thérapeutique	Par le 270 Fourneau					
9	97	4 3,7 p. 100	3 2,8 p. 100	35 33 p. 100	3 2,8 p. 100	61 57,7 p. 100

3,7 p. 100 de rechutes sanguines; 2,8 p. 100 d'évolutions nerveuses ultérieures; 2,8 p. 100 de décès; 57,5 p. 100 de guérisons vraisemblables (pourcentage qui s'élève à 85,8 p. 100 si l'on ne tient pas compte des disparus); tel est, en cette période, le résultat d'ensemble de l'action thérapeutique du 270 Fourneau.

(1) VAN DEN BRANDEN, Essais de traitement de la trypanosomiase humaine chronique par le 270 Fourneau. Note préliminaire. *Annales de la Société belge de Médecine tropicale*, 7, n° 2, novembre 1927, p. 99.

TABLEAU II. — Rechutes sanguines : 3,7 p. 100.

NOMS	TRAITEMENT INITIAL		DURÉE du traitement	DOSES		DÉLAI de rechute	OBSERVATIONS
	Par un autre agent thérapeutique	Par le 270 Fourneau		par kilogramme	totale		
Madabé (7 novembre 1925)	"	270	12 j.	0,080	3,60	28 j.	Reprise du 270 F. guérison.
Angata	"	270	34 j.	0,140	7,65	40 m.	Reprise par atoxyl. guérison.
Soupanazi	"	270	2 m. 1/2.	0,315	15,60	7 m.	Reprise par atoxyl.
Okou-Ifou (août 1925, janvier 1927).	Tryparsamide.	270	6 s.	0,185	10,30	43 j.	Reprise par atoxyl.

TABLEAU III. — Evolutions nerveuses : 2,8 p. 100.

NOMS	TRAITEMENT INITIAL		DURÉE du traitement	DOSES		MODIFICATIONS du liquide céphalo-rachidien			DÉLAI D'ÉVOLUTION	RÉSULTATS après traitement
	Par un autre agent thérapeutique	Par le 270 Fourneau		par kilogramme	totale	Cellules	Albumine	Trypanosome		
Quadina (15 février 1927) Guenguéma (15 février 1927). Essouka (Marie) [30 août 1927].	" " Atoxyl tryparsamide.	270 270 Reprise.	1 m. 1/2. 2 m. 3 m.	0,295 0,415 0,380	44,70 44,40 21,20	14 34 93	0,20 0,18 0,35	OT OT OT	20 m. 27 m. 24 m.	Disparu. Reprise du 270. Evolution progressive.

OBSERVATION I. — Madabé. Doit vraisemblablement la précocité de la réapparition du trypanosome, vingt-huit jours, à une dose médicamenteuse insuffisante : 0 gr. 080 par kilogramme. Soumis immédiatement à une nouvelle cure du 270, 0 gr. 285 par kilogramme, soit en totalité, 12 gr. 70, il n'a présenté, depuis le 22 janvier 1926, aucune manifestation.

Obs. II. — Angata. Réapparition du trypanosome, au bout de dix mois. La durée du traitement initial paraît écourtée et la dose thérapeutique, 0 gr. 140, plutôt faible.

Cette malade, traitée secondairement par l'émétique et des doses fortes, a également guéri.

Obs. III. — Soupanazi. Présente des trypanosomes, dans la circulation périphérique, sept mois après l'arrêt du traitement, qui, cependant, s'est prolongé deux mois et demi et a comporté une dose de 0 gr. 315 par kilogramme, soit un total de 15 grammes de 270 F. Soumis aux doses fortes d'atoxyl, ce malade, toujours en observation, n'a rien présenté depuis le 15 avril 1929.

Obs. IV. — Okou-Ifou. Infecté en 1925, traité avec la tryparsamide, qui n'empêche pas des rechutes sanguines fréquentes. En février 1927, le 270 F. intervient, pour la première fois, dans la cure : 0 gr. 185 par kilogramme, dose totale 10 gr. 30. Le trypanosome fait sa réapparition, quarante-trois jours après la cessation du traitement. L'emploi de l'atoxyl (5 gr. 80) aux doses fortes semble avoir triomphé enfin du flagellé, qui n'a pas reparu depuis juin 1927. En janvier 1929, les centres nerveux demeuraient indemnes de toute irritation.

OBSERVATION I. — Ouadina. Etat initial du liquide céphalo-rachidien : cellules 4 ; albumine 0,15. Le traitement a comporté 7 injections de 270 F., donnant 0 gr. 295 par kilogramme, soit au total : 14 gr. 70. Seize centrifugations du sang pratiquées du 30 mars 1927 au 10 octobre 1928 sont toutes négatives et cependant la rachicentèse montre, après vingt mois, une légère irritation méningée, que traduit le chiffre de 14 cellules. Le malade a disparu.

Obs. II. — Guenguéma. Etat initial du liquide céphalo-rachidien : cellules 3 ; albumine 0,15. En deux mois de traitement, ce malade reçoit 0 gr. 415 par kilogramme de 270 F. Toutes les centrifugations ultérieures demeurent négatives. Une rachicentèse, au bout de vingt-sept mois, révèle un début d'irritation méningée : 34 cellules ; 0,18 d'albumine. Reprise du 270 Fourneau, qui, après un traitement de trois mois et 0 gr. 490 par kilogramme, ramène la formule à : cellules 10 ; albumine 0,20. Ce malade demeure sous surveillance médicale attentive.

Obs. III. — Essouka (Marie). Etat du liquide céphalo-rachidien, au premier examen : cellules 4 ; albumine 0,29. Première cure de 6 gr. 60 d'atoxyl, en 10 injections, suivie d'une rechute à trois mois.

La tryparsamide lui est substituée, à la dose de 0 gr. 355 par kilogramme, en 11 injections ; réapparition du trypanosome en soixante-six jours.

Le 270 est alors utilisé, à la dose de 0 gr. 380 par kilogramme, en 14 injections. Les centrifugations du sang sont désormais négatives, mais le 28 juin

TABLEAU IV. — Décès 28 p. 100.

NOMS	TRAITEMENT INITIAL par le 270 Fourneau	LIQUIDE CÉPHALO RACHIDIEN avant traitement			DURÉE du traitement	DOSES		OBSERVATIONS
		Cellules	Albumine	Trypanosome		par kilogramme	totale	
Antchouani (29 mai 1926)	"	2	0,45	OT	1 m.	0,235	12,40	Décédé 8 mois plus tard de cause inconnue. Décédé 9 mois plus tard de cause inconnue.
Yabandé (1 ^{er} avril 1927)	270	3	0,10	OT	2 m.	0,235	8,60	
Mavoudi (5 avril 1927)	270	1	0,45	OT	1 m. 1/2.	0,230	11,50	

TABLEAU V.

TRAITEMENT INITIAL		RECHUTES sanguines	ÉVOLUTIONS	AMÉLIORATIONS guérisons possibles	DISPARUS	DÉCÈS
Par un autre agent thérapeutique	Par le 270 Fourneau					
38	213	9 3,5 p. 100	33 13,4 p. 100	429 51,3 p. 100	44 17,5 p. 100	36 44,3 p. 100

1929, vingt et un mois après le diagnostic, la rachicentèse montre : cellules 93; albumine 0,35, OT, la deuxième période est installée. Une cure nouvelle par la tryparsamide, en 16 injections, 0 gr. 465 par kilogramme ne procure pas grand bénéfice à la malade. Rachi après trois mois : cellules 56; albumines 0,35. Le pronostic paraît devoir être réservé.

Les causes de ces décès n'ont pu être précisées; il semble que, pour Antchouani, la dose de 270 Fourneau administrée, en un mois, par kilogramme, 0 gr. 295, ait été importante; une intoxication progressive a pu entraîner la mort.

Disparus : 33 p. 100.

Sous cette rubrique, ont été rangés les malades qui se sont soustraits au traitement en cours; ou bien, qui ont déserté les consultations, dès la fin du traitement; ou encore, ceux qui, après plusieurs mois d'observation, n'ont plus reparu.

Guérisons vraisemblables : 57,5 p. 100.

En ce qui concerne les guérisons, considérées comme vraisemblables, il importe de préciser que, seuls, ont été classés dans ce groupe les malades qui, depuis dix-huit à vingt-quatre mois, n'ont pas présenté de trypanosomes dans la lymphe ou le sang périphérique, et dont le système cérébro-spinal demeure indemne de toute réaction. Il serait peut-être osé d'affirmer la guérison de ces trypanosomés; il suffit de constater qu'ils n'offrent, à toutes les explorations possibles, aucune manifestation morbide. On remarquera que, en éliminant les « disparus », le pourcentage des guérisons s'élèverait à 85,8 p. 100.

DEUXIÈME PÉRIODE.

Nous y avons classé les malades, dont le liquide céphalo-rachidien a passé de l'état physiologique, 0 à 5 cellules, et 0 gr. 15 à 0 gr. 22 d'albumine, au déséquilibre pathologique, quelle que soit son importance, quelles que soient ses variations et ses modifications, quels que soient enfin les signes cliniques plus ou moins accusés que montrent à l'examen ces trypanosomés. 251 malades y sont réunis :

TABLEAU VI. — Rechutes sanguines : 3,5 p. 100.

NOMS	TRAITEMENT INITIAL		DURÉE du traitement	DOSES		DÉLAI de rechute	OBSERVATIONS
	Par un autre agent thérapeutique	Par le 270 Fourneau		par kilogramme	totale		
Youbé (3 décembre 1923) . . .	»	270	1 m.	0,450	8,40	2 m. 19 j.	
Manguède	»	270	4 m. 1/2.	0,435	14,70	8 m.	
Souama	Tryparsamide.	Reprise.	2 m. 1/2.	0,345	16,40	8 m.	Cell. 6, alb. 0,22, OT.
Obara	Tryparsamide.	Reprise.	3 m. 1/2.	0,350	22,70	2 m.	Première rechute.
			4 m.	0,405	26,30	4 m.	Deuxième rechute. Pas d'évolution nerveuse.
Mazakouni [Pierre] (9 juillet 1928) .	»	270	3 m.	0,350	18,70	30 j.	Rechute, évolution.
Poungui	»	270	3 m.	0,440	17,60	5 m. 1/2.	
Moulanga (août 1923)	Atoxyl, émetique, tryparsamide, acétylarsan.	Reprise.	2 m.	0,480	44,90	48 j.	Pas d'évolution nerveuse.
Djakima (25 mai 1928)	»	270	2 m.	0,280	43,80	10 m.	Pas d'évolution nerveuse.
Fagna (12 avril 1928)	»	270	2 m. 1/2.	0,300	44,90	7 m.	Cell. 3, alb. 0,22, OT. Evolution nerveuse ulté- rieure.

213 n'ayant été traités, dès le début, que par le 270 et 38 auxquels le 270 n'a été appliqué que secondairement.

3,5 p. 100 de rechutes sanguines ; 13,1 p. 100 d'évolutions progressives ; 51,3 p. 100 d'améliorations prolongées, voire définitives ; 14,3 p. 100 de décès. Ces chiffres sont, à l'actif du 270 Fourneau, dans le traitement de la trypanosomiase nerveuse, d'incontestables succès, d'autant que le pourcentage de guérisons possibles se chiffre par 62 si l'on ne tient pas compte des disparus.

Les rechutes sanguines sont aussi bien précoces que tardives :

A. Rechutes précoces : *quarante-huit, cinquante, soixante et soixante-dix-neuf* jours.

1° Moulanga, quarante-huit jours, depuis le mois d'août 1925, a épuisé l'action de tous les agents thérapeutiques. En 1925 et 1926, rechutes successives, après emploi de l'atoxyl, de l'émétique, de la tryparsamide et de l'acétylarsan. En 1927, l'étude du liquide céphalo-rachidien montre une légère irritation des centres nerveux : cellules, 8 ; albumine, 0,20. Le 270 Fourneau intervient, à la dose, un peu faible peut-être, de 0 gr. 180 par kilogramme. Le trypanosome reparait au bout de quarante-huit jours.

Pour compléter l'histoire de ce malade, nous dirons, qu'examiné en juin 1929, il présentait encore des trypanosomes dans sa circulation périphérique et que les réactions du système nerveux ne s'étaient pas accentuées : cellules, 8 ; albumine, 0,22.

2° Mazakouni, cinquante jours, évolution nerveuse à ses débuts. Cellules, 6 ; albumine, 0,20. Reçoit 0 gr. 350 de 270 Fourneau par kilogramme, au total : 18 gr. 70 au cours d'un traitement de trois mois. Les trypanosomes sont retrouvés dans la circulation au bout de cinquante jours. On leur oppose un traitement par l'atoxyl (8 grammes en huit semaines) ; nouvelle réapparition, au bout de cinq mois et aggravation légère de l'irritation des centres nerveux : cellules, 17 ; albumine, 0,22.

3° Youmbé, soixante-dix-neuf jours, après une cure de courte durée : un mois, qui semble insuffisante 0 gr. 150 par kilogramme, traité secondairement par l'atoxyl, avec succès. N'a présenté aucune manifestation depuis le mois d'avril 1926.

4° Obara, traité en premier lieu par la tryparsamide. Une rechute au bout de quarante jours fait prescrire le 270, qui, après un traitement de trois mois et demi — 0 gr. 350 par kilogramme — laisse réapparaître le trypanosome soixante jours plus tard. Nouvelle cure de 270 Fourneau plus prolongée, quatre mois, plus importante : 0 gr. 405 par kilogramme ; le trypanosome est retrouvé, quatre mois après l'arrêt du traitement, le système cérébro-spinal conserve son amélioration, la rachicentèse montre : cellules, 6 ; albumine, 0,22.

B. Rechutes tardives : *cinq mois et demi, sept mois, huit mois, dix mois.*

1° Pougui, cinq mois et demi, début d'évolution nerveuse : cellules, 23 ; albumine, 0,18 ; le traitement a duré du 6 décembre 1928 au 8 mars 1929, comportant une dose de 0 gr. 410 par kilogramme, qui, malgré son importance, a permis au trypanosome d'envahir, à nouveau, la circulation, cinq mois et demi après.

2° Fagna, début d'évolution nerveuse : 18 cellules, ; albumine, 0,20. Le traitement institué du 12 avril au 22 juin 1928 comporte 0 gr. 300 de 270, par kilogramme. Le trypanosome se montre à nouveau sept mois après. Une cure d'atoxyl entraîne sa disparition ; malheureusement la rachicentèse, pratiquée au quinzième mois, révèle une grosse poussée évolutive de méningo-encéphalite : cellules, 142 ; albumine, 0,65 ; OT.

3° et 4° Deux rechutes au bout de huit mois, l'une, Manguiendé, période nerveuse, au début : cellules, 64 ; albumine, 0,22, traité pendant quatre mois et demi, 0 gr. 435 par kilogramme, conserve l'amélioration de ses lésions nerveuses : cellules, 7 ; albumine, 0,20, tandis que réapparaît le trypanosome dans le sang ; l'autre, Souama, lésions nerveuses plus accentuées : cellules, 34 ; albumine, 0,30, traité, en premier lieu, par la tryparsamide, puis, après une rechute sanguine au bout de quarante-trois jours, par le 270 Fourneau, à la dose de 0 gr. 315 par kilogramme, répartis sur deux mois et demi, montre encore le trypanosome, dans sa circulation, au bout de huit mois, tout en présentant un liquide céphalo-rachidien presque normal : cellules, 6 ; albumine, 0,22.

5° Djakima, rechute sanguine dix mois après l'arrêt de la cure qui n'a duré que deux mois et demi, comportant 0 gr. 280 de 270 par kilogramme.

Parmi les 129 trypanosomés compris dans ce tableau, il est possible de considérer comme guéris :

1° Ouata, dont le liquide céphalo-rachidien présentait, au début : cellules, 150 ; albumine, 0,30 ; + T, puis, au bout de trois ans : cellules, 3 ; albumine, 0,25 ; OT.

2° Lascony, au début : cellules, 14 ; albumine, 0,20 ; OT ; après trente-trois mois : cellules, 2 ; albumine, 0,22.

3° Yandouka, au début : cellules, 112 ; albumine, 0,20 ; + T ; après trente mois : cellules, 12 ; albumine, 0,20.

4° Poussona, au début : cellules, 14 ; albumine, 0,20 ; OT ; après trente mois : cellules, 4 ; albumine, 0,18.

5° Lombé, au début : cellules, 31 ; albumine, 0,15 ; OT ; après vingt-neuf mois : cellule, 1 ; albumine, 0,20 ; OT.

6° Mokombi, au début : cellules, 253 ; albumine, 0,55 ; OT ; après vingt-neuf mois : cellules, 5 ; albumine, 0,25 ; OT.

7° Bokokoua, au début : cellules, 13 ; albumine, 0,20 ; OT ; après vingt-quatre mois : cellules, 4 ; albumine, 0,22.

8° Zamou, au début : cellules, 80 ; albumine, 0,20 ; OT ; au bout de vingt-neuf mois : cellules, 2 ; albumine, 0,18 ; OT.

9° Douabéka, au début : cellules, 15 ; albumine, 0,20 ; OT ; après deux ans : cellules, 3 ; albumine, 0,20 ; OT.

10° Valanguélé, au début : cellules, 22 ; albumine, 0,20 ; OT ; après deux ans : cellules, 5 ; albumine, 0,20 ; OT.

11° Golinda, au début : cellules 180 ; albumine, 0,40 ; OT ; après deux ans : cellule, 1 ; albumine, 0,20 ; OT.

12° Grossena, au début : cellules, 760 ; albumine, 0,40 ; OT ; après deux ans : cellules, 8 ; albumine, 0,40 ; OT. Le malade n'est plus traité, quoique la proportion d'albumine reste élevée ; mais aucune évolution ne se manifeste.

13° Déké, au début : cellules, 218 ; albumine, 0,45 ; + T ; après vingt-trois mois : cellule, 0 ; albumine, 0,25.

TABLEAU VII. — Effets et résultats du traitement. Améliorations prolongées. Guérisons possibles. 51,3 p. 100.

NOMS	TRAITEMENT INITIAL		LIQUIDE céphalo-rachien avant traitement			DURÉE du traitement	PONDUS		LIQUIDE céphalo-rachien en fin de traitement			DURÉE de l'observation et des résultats acquis
	Par un autre agent thérapeutique	Par le 270 Fourneau	Cellules	Albumine	Trypanosome		par kilogramme	totale en grammes	Cellules	Albumine	Trypanosome	
Dama (29 mai 1926)		270	360	0,50	OT	10 m.	1,650	106	44	0,25	OT	16 mois.
Bonyia (4 mars 1921)	Atoxyl émétique.	Reprise.	488	0,45	OT	21 m.	4,540	92,40	8	0,25	OT	12 mois.
Bayé (28 mai 1926)		270	35	0,40	OT	6 s.	0,305	16,90	7	0,28	OT	1 an, disparu.
Kanza (16 janvier 1926)	Atoxyl émétique.	Reprise.	88	0,55	OT	30 m.	1,285	72,40	8	0,30	OT	16 mois; conserve des mouvements s. asmodiques.
Lascony (29 mai 1923)		Reprise.	14	0,20	OT	2 m.	0,245	12,40	2	0,22	OT	33 mois.
Ibara (5 mai 1926)	Atoxyl émétique.	270	602	0,80	+ T	2 m.	0,415	20,50	64	0,20	OT	Disparu.
Mokimbi (8 octobre 1923)	Atoxyl émétique.	Reprise.	255	0,55	OT	3 m.	0,345	18,55	5	0,25	OT	29 mois.
Kibangou (9 février 1926)		270	64	0,40	OT	8 m.	1,020	73,60	22	0,25	OT	Disparu.
Assiti (9 février 1925)	Atoxyl émétique.	Reprise.	408	0,40	OT	6 m.	0,645	27,30	6	0,22	OT	14 mois.
Ibara (21 février 1925)	Atoxyl émétique.	Reprise.	423	0,50	OT	55 j.	0,305	16,20	7	0,30	OT	4 mois; soumis à la trypanasimide.
M'Poula (21 mars 1925)		Reprise.	31	0,22	OT	3 m.	0,365	22,80	3	0,45	OT	23 mois; soumis à la trypanasimide.
Moualo (13 novembre 1925)	Atoxyl émétique.	270	400	0,60	+ T	5 m.	0,685	47,70	93	0,25	OT	la trypanasimide.
Assana (23 novembre 1925)		270	440	0,30	+ T	2 m.	0,465	30,30	8	0,20	OT	Disparu après 12 mois.
M'Bono (1 ^{er} décembre 1925)		270	450	0,30	+ T	14 m.	1,885	124,10	3	0,20	OT	Disparu.
Golinda (3 décembre 1925)		270	480	0,40	OT	2 m.	0,935	49,75	4	0,20	OT	2 ans.
Zamou (11 décembre 1925)		270	600	0,70	+ T	2 m.	0,520	23,50	5	0,10	OT	1 an, disparu.
Gassena (25 novembre 1926)		270	760	0,40	OT	4 m.	0,570	39,84	8	0,40	OT	2 ans.
Boyenghé (18 déc. 1925)		270	300	0,40	OT	2 m.	0,245	11,80	0	0,20	OT	1 an, disparu; amblyopie.
Ouata (21 décembre 1925)		270	450	0,30	+ T	1 m.	0,255	15,90	3	0,25	OT	3 ans; amblyopie.
Yandouka (10 février 1927)		270	412	0,20	+ T	2 m. 1/2.	0,485	23	12	0,20	OT	30 mois.
Boussoua (14 février 1927)		Reprise.	38	0,25	OT	5 m.	0,910	60,40	6	0,25	OT	Disparu.
Djamba (15 février 1927)	Atoxyl et trypanasyl.	270	22	0,25	OT	2 m. 1/2	0,260	15,30	3	0,45	OT	Disparu après 15 mois d'observation.
Lambé (15 février 1927)		270	34	0,45	OT	2 m. 1/2.	0,320	18	4	0,20	OT	29 mois.

[illegible]

NOMS	TRAITEMENT INITIAL		LIQUIDE céphalo-rachidien avant traitement			DURÉE du traitement	POSES		LIQUIDE céphalo-rachidien de traitement			DURÉE de l'observation et des résultats acquis
	Par un autre agent thérapeutique	Par le 270 Fourneau	Cellules	Albumine	Trypanosome		par kilogramme	totale en grammes	Cellules	Albumine	Trypanosome	
Lakotine (11 mai 1928) . . .	Tryparsamide.	Reprise après rechute sanguine.	49	0,25	OT	3 m.	0,410	22,20				7 mois.
Pangoué (11 mai 1928) . . .	Tryparsamide.	Reprise après rechute sanguine.	29	0,22	OT	3 m.	0,400	29,40				6 mois.
Molanzombé (23 mai 1928) .		270	6	0,25	OT	2 m. 1/2.	0,325	18,6	1	0,45	OT	16 mois.
Zapoua (29 mai 1928) . . .		270	4	0,30	OT	8 m. 1/2.	1,090	10,80	1	0,45	OT	11 mois.
Winzou (21 juin 1928) . . .		270	40	0,15	OT	3 m.	0,360	18,40	1	0,45	OT	11 mois.
Poudi (30 juin 1928) . . .		270	9	0,25	OT	3 m.	0,410	21,30	2	0,22	OT	7 mois.
Poulama (11 juillet 1928) . .	Tryparsamide.	Reprise après rechute sanguine.	56	0,25	OT	3 m.	0,400	23,30	2	0,22	OT	7 mois.
Makosso (11 sept. 1928) . . .		270	460	0,60	T	6 m.	0,834	49,90	6	0,35	OT	Reprise par la tryparsamide.
Emongui (14 sept. 1928) . . .		270	32	0,30	OT	4 m.	0,530	24,90	4	0,22	OT	10 mois.
Etika (14 septembre 1928) . .		270	92	0,30	OT	3 m. 1/2.	0,455	14,40	3	0,22	OT	14 mois; reprise de l'évolution. 380, 220.
Météfia (17 septembre 1928).		270	618	0,70	T	7 m.	1,035	48,50	7	0,32	OT	3 mois; reprise par la tryparsamide.
Molingou (18 sept. 1928) . . .		270	48	0,22	OT	3 m.	0,400	19,60				9 mois.
Yatongo (18 sept. 1928) . . .		270	617	0,85	T	9 m.	1,185	77,40	16	0,40	OT	3 mois; reprise par la tryparsamide.
Zabo (20 septembre 1928) . .		270	567	0,55	T	6 m.	0,745	36,60	9	0,25	OT	Disparu.
Mampouya (25 sept. 1928) . .		270	780	0,56	T	6 m.	0,700	29,59	7	0,25	OT	3 mois 1/2. Tryparsamide.
Kodia (1 ^{er} octobre 1928) . . .		270	3,546	1,20	T	7 m. 1/2.	1,305	59,70	18	0,35	OT	Reprise par la tryparsamide.
Dongo (2 octobre 1928) . . .		270	422	0,50	T	7 m.	0,895	47,20	6	0,30	OT	Disparu.
Ambetou (2 octobre 1928) . .		270	42	0,25	OT	3 m. 1/2.	0,480	27,90	3	0,22	OT	9 mois.
Mokombé (4 octobre 1928) . .		270	21	0,35	OT	4 m. 1/2.	0,565	35,30	7	0,22	OT	9 mois.
Demba (4 octobre 1928) . . .		270	1,377	0,85	OT	5 m.	0,560	35,40	40	0,25	OT	9 mois.
Lombo (7 novembre 1928) . . .		270	42	0,25	OT	3 m. 1/2.	0,400	19,90				9 mois.
Mamboutou (9 nov. 1928)		270	927	0,60	T	2 m.	0,454	57,40	0	0,30	OT	9 mois.

Yacoundé (22 janvier 1929)	330	0,25	OT	5 m.	0,403	22,30	4	0,22	OT	7 mois.
Yacoundé (22 janvier 1929)	270	178	0,40	OT	5 m.	0,560	5	0,25	OT	6 mois.
Kimbembé (5 février 1929)	270	9	0,22	OT	3 m.	0,410	21			7 mois.
Albéline (8 février 1929)	270	28	0,22	OT	3 m.	0,420	22,30	4	0,20	OT
Bonio (18 février 1929)	270	690	0,0	0,40	7 m. 1/2	0,415	22,30	9	0,22	OT
Mania (2 mars 1929)	270	40	0,22	OT	3 m. 1/2	0,430	27,10	8	0,22	OT
Oko (7 mars 1929)	270	29	0,22	OT	4 m.	0,490	24,75			6 mois.
Malanganba (7 mars 1929)	270	8	0,22	OT	3 m.	0,420	25,30			Disparu.
Mr C.	270	6	0,25	OT	3 m.	0,278	48,50			Rapatrié.
Sengué (29 avril 1929)	270	40	0,22	OT	2 m.	0,430	25,20			Observation en cours.
Omiaka (29 avril 1929)	270	1.290	0,52	+	6 m.	0,700	48,80	14	0,30	OT
Bango (25 mai 1929)	270	704	0,42	+	4 m.	0,490	30,90	7	0,22	OT
Zongo (8 juin 1929)	270	20	0,22	OT	3 m.	0,360	8,40	4	0,22	OT
Ouhélie (13 juin 1929)	270	72	0,50	OT	4 m.	0,340	22,30	2	0,22	OT
M'Bouyou (22 juin 1929)	270	46	0,25	OT	3 m.	0,405	28,00	2	0,22	OT
M'nsombo (26 juin 92)	270	12	0,25	OT	3 m.	0,380	20,60	3	0,20	OT
Léléka (26 juin 1929)	270	42	0,18	OT	2 m.	0,210	7,10	12	0,25	OT
Gatébaï (27 juin 1929)	270	7	0,22	OT	3 m.	0,330	17,20	2	0,22	OT
Koumou (27 juin 1929)	270	34	0,20	OT	2 m. 1/2	0,330	15,50	5	0,18	OT
Gampika (27 juin 1929)	270	12	0,22	OT	2 m.	0,300	10,80			Observation en cours.
Tsoumou (27 juin 1929)	270	41	0,25	OT	3 m.	0,380	20	3	0,21	OT
Ambouba (27 juin 1929)	270	48	0,15	OT	2 m. 1/2	0,300	12,40			Observation en cours.
Mabouli (2 mars 1929)	270	3	0,25	OT	3 m.	0,390	18,40	2	0,45	OT
Bilombo (3 décembre 1928)	270	50	0,25	OT	3 m.	0,425	18,60	7	0,22	OT
Ikoko (23 mai 1928)	270	3	0,30	OT	3 m.	0,340	18,90	4	0,25	OT
Koundjou (23 mai)	270	10	0,40	OT	3 m.	0,285	15,30	4	0,35	OT
Maboundou (6 janvier 1926)	270	350	0,35	+	2 m. 1/2	0,559	24,30	9	0,15	OT
Dinga (11 mai 1928)	270	8	0,25	OT	3 m.	0,320	21,30	4	0,22	OT
Pemenga (11 mai 1928)	270	2.600	0,50	+	3 m.	0,405	22,80	8	0,15	OT
Anfoua (21 mai 1928)	270	9	0,18	OT	3 m.	0,300	16,10	5	0,20	OT
Koua (20 mai 1928)	270	7	0,25	OT	2 m. 1/2	0,340	15	2	0,20	OT
Gandjiba (15 mai 1928)	270	6	0,25	OT	2 m. 1/2	0,300	14,80	4	0,25	OT
Gakimba (15 mai 1928)	270	8	0,20	OT	2 m. 1/2	0,300	11,80			12 mois (a fait un avortement).
Lingalibouna (7 juin 1929)	270	7	0,25	OT	2 m.	0,465	9,30			Amblyopie bilatérale, disparu.
Kassa (27 juillet 1928)	270	5	0,25	OT	4 m.	0,130	7,20			8 mois.
Massemba (22 nov. 1928)	270	27	0,20	OT	3 m.	0,290	7,10	9	0,48	OT

Reprise.

Tryparsamide.

Atoxyl émélique.

Reprise après
rechute sanguine.

Tryparsamide.

Reprise après
rechute sanguine.

Tryparsamide.

NOMS	TRAITEMENT INITIAL		LIQUIDE céphalo-rachidien avant traitement	DURÉE du traitement	DOSES		LIQUIDE céphalo-rachidien en fin de traitement			DURÉE de l'observation et des résultats acquis
	Par un autre agent thérapeutique	Par le 270 Fourneau	Cellules		Alumine	Trypanosome	Cellules	Alumine	Trypanosome	
Pioné (19 février 1929)		270	7	0,22	OT	0,390	14,40			7 mois.
M'Bongo (19 février 1929)		270	7	0,22	OT	0,350	20,40			7 mois.
Ombana (19 février 1929)		270	40	0,18	OT	0,370	20,80			7 mois.
Boubo (19 février 1929)		270	25	0,15	OT	0,410	17,30			7 mois.
Ouangombé (21 février 1929)		270	47	0,15	OT	0,375	31	7	0,20	7 mois.
Boungou (18 février 1929)		270	45	0,18	OT	0,445	25,90	4	0,20	6 mois.
Mangoua (16 février 1929)		270	15	0,35	OT	0,480	25	9	0,30	Disparu.
Itoua (16 février 1929)		270	13	0,22	OT	0,400	19	4	0,20	3 mois.
Eloua (16 février 1929)		270	45	0,22	OT	0,400	14,70			3 mois.
Diya (17 février 1929)		270	9	0,18	OT	0,410	17,50			6 mois.
Ossengué (15 février 1929)		270	6	0,18	OT	0,320	45			6 mois.
Obila (12 février 1929)		270	8	0,15	OT	0,390	18,40			6 mois.
Moukalo (12 février 1929)		270	8	0,18	OT	0,390	15,10			6 mois.
Galaoué (12 février 1929)		270	21	0,18	OT	0,390	18,30			6 mois.
Gouya (15 février 1927)		270	6	0,15	OT	0,330	46,50	5	0,22	Disparu.
Gayo (12 février 1929)		270	20	0,22	OT	0,425	15,40	5	0,22	6 mois.
Mangaïou (12 février 1929)		270	10	0,18	OT	0,390	9,05	1	0,18	6 mois.
N Tsouo (12 février 1929)		270	7	0,18	OT	0,390	44,90			3 mois.
Anouo (12 février 1929)		270	56	0,22	OT	0,480	45,20	19	0,20	3 mois.
M Bama (15 février 1929)		270	40	0,22	OT	0,370	18	8	0,20	3 mois.
Edzona (10 juin 1929)		270	60	0,22	OT	0,380	21,70	5	0,20	3 mois.
Yoka (11 juin 1929)		270	32	0,25	OT	0,380	26,70	9	0,18	3 mois.
Mongoto (11 juin 1929)		270	8	0,18	OT	0,380	49,40			3 mois.
Ossibi (11 juin 1929)		270	37	0,22	OT	0,380	21,40	5	0,18	OT
Zamou (7 mars 1927)		270	80	0,20	OT	0,305	10,80	2	0,18	OT
Ebela (25 juin 1928)		270	484	0,30	OT	0,495	9,90	2	0,15	OT
Okariké (28 décembre 1928)		270	34	0,20	OT	0,380	14,40	8	0,18	OT

14° Moualo, au début : cellules, 400; albumine, 0,60; + T. Ce malade avait bénéficié d'une très notable amélioration, après une première cure de 270 Fourneau, qui de novembre 1925 à février 1926 avait ramené la composition du liquide céphalo-rachidien à : cellules, 4; albumine, 0,20. Ce résultat encourageant se maintint vingt-trois mois. En février 1928, le liquide céphalo-rachidien montrait une augmentation appréciable des cellules 158; albumine, 0,25; OT. Le traitement fut repris. Après deux mois et demi de cure de 270 Fourneau, 10 février 1928, 28 avril 1928, le liquide ne présentait plus que : cellules, 7; albumine, 0,22. Huit mois après, janvier 1929, l'évolution avait repris sa marche : cellules, 93; albumine, 0,25. Le 270 Fourneau, paraissant avoir épuisé son action, fut mis de côté et la tryparsamide intervint, pour mener à une très grosse amélioration : cellule 1; albumine, 0,22, qui persiste depuis huit mois.

15° Oranga, au début : cellules, 24; albumine, 0,25; OT; après vingt-deux mois : cellules, 10; albumine, 0,18.

16° Moukoundé, au début : cellules, 216; albumine, 0,70; OT; après dix-neuf mois : cellules, 8; albumine, 0,25.

17° Essanga, au début : cellules, 16; albumine, 0,25; OT; après dix-neuf mois : cellule, 1; albumine, 0,25.

18° Abdoulaye, au début : cellules, 540; albumine, 0,85; + T; après dix-huit mois : cellules, 4; albumine, 0,22; OT.

Il serait téméraire de pronostiquer la guérison des 114 autres malades; la durée de surveillance est insuffisante; les reprises d'évolution peuvent être tardives, tel fut le cas de Moualo. L'avenir dira si ces améliorations sont définitives et les guérisons acquises. Quoi qu'il en puisse être, de semblables résultats sont remarquables, en ce sens que tous ces indigènes ont repris leurs occupations, leurs travaux; les crises de sommeil ont disparu, leur état général est parfait et en impose pour la guérison.

Ces 33 malades constituent, en très grande majorité, des succès partiels de la médication. Chez eux, l'amélioration s'est toujours manifestée; mais, avec plus ou moins de rapidité, l'action du 270 s'est montrée, limitée d'abord, épuisée ensuite. Il a fallu recourir à la tryparsamide, qui, dans ces cas décevants, permet encore d'espérer et d'obtenir améliorations et guérisons.

Ces 36 décès signent, sans appel, l'échec de la médication, soit que le 270 ait été appliqué avec ténacité jusqu'à la mort, soit qu'il ait été abandonné pour l'intervention plus efficace de la tryparsamide.

Ils ne sont pas tous imputables à la trypanosomiase; quelques cas incontestablement améliorés, succombant à une

TABLEAU VIII. — Evolution progressive : 13 p. 100.

NOMS	TRAITEMENT INITIAL		LIQUIDE céphalo-rachidien avant traitement			DURÉE du traitement	DOSES		LIQUIDE céphalo-rachidien en fin de traitement			DURÉE des résultats obtenus	OBSERVATIONS
	Par un autre agent thérapeutique	Par le 270 Fourneau	Cellules	Albumine	Trypanosome		par kilogramme	totale en grammes	Cellules	Albumine	Trypanosome		
Ouya (30 août 1922).	Atoxyl-émétique.	Reprise.	6	0,35	OT	2 m.	0,195	40,30	6	0,25	OT	27 m.	2; 0,38; OT; soumis à la tryparsamide.
Zalé (2 mai 1925).		270	128	0,60	+	9 m.	0,400	45,80	14	0,25	OT	3 m.	79; 0,35; OT; soumis à la tryparsamide.
Boketou (8 janv. 1929)	Atoxyl-émétique.	Reprise.	35	0,30	OT	3 m.	0,705	44,90	61	0,45	OT	2 m.	Amaurose; soumis à la tryparsamide 8; 0,38; OT.
Okambou (23 mai 1929).	Atoxyl-émétique.	Reprise.	220	0,70	OT	4 m.	0,450	19,50	4	0,30	OT	Ne peut être fixée la tryparsamide ayant été substituée au 270	Fourneau.
Maria Malou (12 janv. 1925)	Atoxyl-émétique.	Reprise	54	0,50	OT	5 m. 1/2.	0,970	43,60	10	0,40	OT	10 m.	Soumis à la tryparsamide. Evolution progressive.
Ringouimaté (14 nov. 1926)		270	131	0,40	OT	2 m. et 2 s.	0,385	17,60	14	0,30	OT	7 m.	Repris par la tryparsamide. Amélioration
Mahoulou (12 fév. 1927)		270	138	0,50	OT	16 m. 1/2.	2,300	113	101	0,25	OT	Néant.	Evolut on traitée par tryparsamide.
Loupentbé (25 av. 1927).		270	223	0,30	OT	14 m.	1,730	49,70	34	0,30	OT	Néant.	Insuccès Reprise par la tryparsamide.
Loufoua (2 mai 1927).		270	91	0,30	OT	17 m. 1/2.	2,130	84,75	184	0,38	OT	Néant.	Reprise par la tryparsamide.
Bouanga (5 juil. 1927).		270	194	0,70	OT	15 m.	1,930	90,65	114	0,60	OT	Néant.	Reprise par la tryparsamide.
Bouéfini (29 oct. 1927).		270	896	1,50	+	15 m.	1,630	80,20	19	0,75	OT	4 m.	Reprise par la tryparsamide. 0,89 alb.; + l.
Mokouma (28 nov. 1927).		270	1.400	0,70	+	12 m.	1,460	73,40	93	0,25	OT	2 m. 1/2.	Reprise par la tryparsamide; 502 cell.
Nafoundou (9 janv. 1928).		270	620	0,60	+	13 m.	1,730	86,50	15	0,30	OT	3 m.	Reprise par la tryparsamide; 443 cell.

Guirimba (30 mars 1928).	270	300	0,70	+ T	12 m.	4,370	65,50	9	0,40	OT	Reprise par la try- parsamide.
Fagna (12 avril 1928).	270	18	0,20	OT	2 m.	0,300	14,90	142	0,65	OT	Reprise par la try- parsamide.
Zanga (19 avril 1929).	Reprise	150	0,30	+ T	4 m.	0,561	34	179	0,40	OT	Reprise par la try- parsamide.
Mazakoumi (9 juillet).	270	6	0,20	OT	3 m.	0,350	18,70	17	0,22	OT	Evolution. Amblyopie bi- latérale.
Zanga (12 sept. 1928).	270	7	0,20	OT	3 m.	0,340	22,40	39	0,25	OT	Reprise par la try- parsamide.
Esomijabaka (2 oct. 1928).	270	141	0,25	OT	6 m.	0,840	49,70	110	0,38	OT	Reprise par la try- parsamide.
Moukoumba (9 oct. 1928).	270	328	0,50	+ T	6 m. 1/2.	0,790	37	24	0,25	OT	Reprise par la try- parsamide.
Matsanga (5 juin 1928).	270	120	0,50	+ T	4 m.	0,540	17,20	80	0,60	OT	Reprise par la try- parsamide.
Dinga (7 mars 1927).	270	70 380	0,55 0,55	OT OT	11 m.	1,415	88,70	3	0,20	OT	Reprise par la try- parsamide.
Mondongo (13 juil. 1927).	270	14	0,38	OT	3 m. 1/2.	0,600	31,10	0	0,25	OT	Observation.
Donani (18 juil. 1927).	270	76	0,56	OT	5 m.	0,940	20,60	6	0,25	OT	Evolution : 172 cel.; 0,45 alb.; OT. Re- prise par tryparsamide.
Mangouka (29 août 1927).	270	354	0,40	OT	12 m.	1,470	87,70	13	0,22	OT	Reprise de l'évolu- tion : 33 cel.; 0,80 alb.; OT. Traité par la tryparsamide.
Elaka (5 sept. 1927).	270	114	0,80	OT	11 m.	1,425	76,30	6	0,35	OT	Reprise de l'évolu- tion : 98 cel.; 0,25 alb.; OT. Traité par la tryparsamide.
Bolé (26 sept. 1927).	270	470	0,70	OT	8 m.	1	53,40	14	0,25	OT	Reprise de l'évolu- tion : 23 cel.; 0,30 alb.; OT. Traité par la tryparsamide.
Ebiakassi (10 sept. 1928).	270	44	0,30	OT	5 m.	0,670	40,60	14	0,25	OT	Reprise de l'évolu- tion : 31 cel.; 0,35 alb.; OT.
Ibanda (4 déc. 1928).	270	55	0,25	OT	3 m.	0,380	17,20	28	0,25	OT	Reprise de l'évolu- tion : 117 cel.; 0,40 alb.; OT.

Reprise de l'évolution : 75
cel.; 0,25 alb.; OT.
Reprise de l'évolution : 38
cel.; 0,30 alb.; OT.

TABLEAU IX. — Décès : 14, 3 p. 100.

NOMS	TRAITEMENT INITIAL		LIQUIDE céphalo-rachidien avant traitement			DURÉE du traitement	DOSES		LIQUIDE céphalo-rachidien après traitement			LIQUIDE céphalo-rachidien avant la mort			OBSERVATIONS
	Par un autre agent thérapeutique	Par le 270 Fournneau	Cellulose	Albumine	Trypanosome		par kilogramme	totale en kratimes	Cellulose	Albumine	Trypanosome	Cellulose	Albumine	Trypanosome	
Okou		270	300	0,35	OT	2 m.	0,485	26,50	42	0,30	OT	330	0,40	OT	Reprise par la trypanosomie.
Kanga		Reprise.	200	0,30	OT	1 m.	0,150	7,30	26	0,45	+ T	Manque.			Reprise par la trypanosomie.
Bassimba		270	432	0,70	OT	3 m.	0,385	49,70	8	0,25	OT	478	0,40	OT	Evolution au bout de cinq mois. Décédé subitement.
Moyenemou		270	300	0,25	+ T	1 m.	0,270	6,05	9	0,40	OT	Manque.			Mortensimmois. Décédé subitement.
Galoua (9 août 1925) .		270	010	0,70	+ T	4 m.	0,300	8,70	97	0,25	OT	Manque.			
Poloué (27 juil. 1928) .		270	6	0,25	OT	2 m.	0,235	4,30				Manque.			
Mampouya		270	423	0,25	+ T	1 m. 1/2.	0,165	2,25	30	0,45	OT				Pneumonie.
Bakoya		270	6	0,20	OT	3 sem.	0,060	3,50							
Goye (17 sept. 1923) .		Reprise.	478	0,75	+ T	1 m. 1/2.	0,465	9,70	39	0,40	OT	43	0,40	OT	
Héna (8 août 1924) .		Reprise.	100	0,30	OT	3 m.	0,320	44,50	12	0,20	OT	45	0,40	OT	
Mokama (22 janv. 1925) .		Reprise.	750	0,50	OT	1 m. 1/2.	0,225	12,70							
Bongo (7 avril 1927) . .		270	510	0,40	+ T	7 m.	0,790	56,70	414	0,56	+ T	607	0,50	+ T	Amaurose. Més. Reprises sans succès par la trypanosomie.
Sili (12 avril 1924) . . .		Reprise.	50	0,20	+ T	2 m. 1/2.		8,95	55	0,25	OT	Manque.			
N'Dassi (26 mai 1926) .		Reprise.	200	0,50	OT	1 m. 1/2.	0,06	2,80	404	0,50	OT	Manque.			
Ganga (26 sept. 1927) .		270	75	0,60	+ T	6 m.	0,595	49,60	38	0,50	OT	70	0,60	OT	
Senga (12 août 1927) . .		270	206	0,56	OT	3 m.	0,395	9	42	0,25	OT				Pneumonie.
Mahoungou (8 oct. 1927) .		270	404	0,80	OT	3 m.	0,455	47,40	35	0,20	OT	47	0,20	OT	Pleuro-pneumonie.
Matsoko (19 av. 1927) .		270	424	0,53	OT	6 sem.	0,480	9,80	20	0,35	OT	Manque.			
Gardamané (30 ar. 1927) .		270	46	0,30	OT	1 m. 1/2.	0,240	13,6	24	0,35	OT	6	0,25	OT	Décédé subitement.
Kouka (9 août 1927) . .		270	192	1	OT	2 sem.	0,020	0,60							

dienne : 1 gramme; cellules, 2.000. Pas de trypanosome dans le liquide céphalo-rachidien. Ayant reçu 0 gr. 030 de 270 par kilogramme, au total 2 grammes, est décédé subitement après deux semaines de traitement.

Cas de Kouba. Albumine rachidienne : 1 gramme; cellules, 192; pas de trypanosomes dans le liquide céphalo-rachidien. Ayant reçu 0 gr. 020 de 270 par kilogramme, au total 0 gr. 60; décédé subitement après deux semaines de traitement. L'absence de parallélisme entre la réaction cellulaire et le taux de l'albumine assombrissait le pronostic.

Cas de Malonda : albumine rachidienne, 0 gr. 56; cellules, 98; pas de trypanosomes dans le liquide. Ici aussi, le pronostic est assombri par le défaut de parallélisme entre le chiffre des cellules et le taux de l'albumine. La mort survient au bout de deux semaines, après une dose de 0 gr. 030 de 270 par kilo, 1 gr. 60 au total.

Nous ne signalerons que pour mémoire les malades disparus : 44, 17,5 p. 100, soit pendant la durée du traitement, soit au cours de la surveillance dont ils étaient l'objet.

COMPLICATIONS DU 270 FOURNEAU.

Elles sont de deux ordres : l'une sans importance, l'autre plus fâcheuse, parce qu'elle peut entraîner l'interruption du traitement.

Dès le début de la cure, certains malades ont, après l'injection, un ou plusieurs vomissements, en général tardifs. Il est rare de les constater aussitôt après l'injection; ils se produisent, généralement, plusieurs heures après, sans malaise préalable et ne se répètent pas. Ce sont des vomissements alimentaires, sans caractères spéciaux, dont pâtissent aussi bien les Européens que les indigènes, les sujets robustes que les malin-gres, les malades en première période que ceux en deuxième.

Il est facile d'y remédier, en dédoublant la dose prescrite, qui est administrée en deux fois, au lieu d'une, à un intervalle de trois ou quatre jours.

La deuxième complication a trait aux troubles de la vue; exceptionnels et tardifs avec le maniement de la tryparsamide, ils sont précoces et moins rares avec l'emploi du 270 Fourneau.

Nous ne les avons jamais constatés chez les trypanosomés au stade d'infection lymphatique et sanguine.

Par contre, lorsque le système nerveux n'a plus son intégrité absolue, certains malades peuvent, parfois, présenter brusquement des troubles visuels. Nous en relevons 5 cas

parmi les 251 trypanosomés nerveux traités : 1,9 p. 100. Ces troubles s'annoncent par une diminution de l'acuité visuelle, puis une déformation du champ visuel, enfin une imprécision des contours des objets et la sensation de brouillard. L'examen du fond de l'œil laisse voir une papille blanche, sans lésion décelable des milieux et de la rétine. Si l'arrêt immédiat du traitement prépare généralement une amélioration rapide de ces troubles, il peut se faire, par contre, qu'ils poursuivent leur évolution, aboutissant à l'amaurose. Et cette constatation permet d'avancer l'hypothèse que ces troubles visuels peuvent ne pas être mis à la charge exclusive du 270 Fourneau, mais aussi à celle des lésions évolutives des centres nerveux, précipitées vraisemblablement par l'action trop brutale du composé arsenical.

CONDUITE DU TRAITEMENT.

La posologie du 270 doit être prudente, calculée d'après le kilogramme de poids vif du sujet. Les voies sous-cutanée et intraveineuse sont aussi aisément utilisées l'une que l'autre.

La dose initiale que nous appliquons volontiers est de 15 milligrammes par kilogramme, elle s'accroît de 5 milligrammes par semaine, jusqu'à la dose de 30 à 35 milligrammes par kilogramme, à laquelle sera maintenu le malade jusqu'au chiffre global de 300 à 350 milligrammes par kilogramme, chez les trypanosomés en première période. La durée moyenne du traitement sera de dix à douze semaines.

Dans la trypanosomiasse nerveuse, le 270 Fourneau sera manié avec d'autant plus de prudence que les lésions révélées par cette véritable biopsie qu'est la rachicentèse seront plus accusées et plus graves. Le traitement sera poursuivi jusqu'au retour à son état normal du liquide céphalo-rachidien, sans toutefois épuiser l'action thérapeutique efficace du produit, auquel il sera prudent de substituer, en temps utile, la tryparsamide.

CONCLUSIONS.

Le 270 Fourneau a, désormais, sa place dans l'arsenal thérapeutique si restreint de la trypanosomiasse humaine, causée par *Tr. Gambiense*.

Trypanocide puissant, il est, au stade d'infection lymphatique et sanguine, supérieur à l'atoxyl (3,7 p. 100 de rechutes sanguines au lieu de 15,9 p. 100), qui lui sera, dans certains cas, un adjuvant utile, et à la tryparsamide (19,6 p. 100 de rechutes sanguines).

Au stade d'infection du système cérébro-spinal, son efficacité, plus limitée toutefois que celle de la tryparsamide, surtout dans les lésions avancées et anciennes, est encore remarquable, soit seule, soit en association avec la tryparsamide, qui lui sera immédiatement substituée, dès que les effets en paraîtront épuisés.

PRÉSENCE DE CORPUSCULES ENDOGLOBULAIRES DANS LE SANG DES LÉZARDS

par le Dr GIUSEPPE MIRONE, Assistant.

(Institut d'Hygiène de la R. Université de Turin,
Directeur Prof. Arnaldo Maggiora.)

Au cours de quelques recherches sur les hématozoaires des lézards du Piémont, j'ai observé, à l'intérieur des hématies, des corpuscules spéciaux, avec particularités morphologiques et structurales que je ne crois pas inutile de décrire : sur 102 lézards examinés, dont 52 *Lacerta muralis*, 44 *Lacerta vivipara*, 6 *Lacerta viridis*, j'ai constaté la présence des corpuscules endoglobulaires dans 3 *Lacerta muralis*, 1 *Lacerta vivipara*, 2 *Lacerta viridis*, en tout 6 fois; tandis que presque tous les lézards examinés étaient infectés par des hémogrégarines et plus particulièrement, par ordre de fréquence, par les espèces *Karyolysus bicapsulatus*, *biretortus* et *nanus*.

Les corpuscules endoglobulaires, dans ce petit nombre de cas trouvés positifs, étaient très nombreux et on les notait dans 85 p. 100 environ des hématies; le *Karyolysus* parasitait 2 p. 100 environ des globules rouges, tandis que 12 p. 100 des hématies étaient normales. Les érythrocytes qui contenaient des corpuscules endoglobulaires n'étaient jamais parasités par le *Karyolysus*. Les corpuscules à forme ronde, du diamètre de 1,5 à 3 μ , étaient toujours uniques à l'intérieur des hématies, bien rarement accouplés; leur position variait; quelquefois ils étaient situés le long de l'axe le plus court de l'hématie; d'autres fois, et bien plus souvent, sur l'axe le plus long; ils étaient toujours paranucléaires et plus près de la périphérie du globule. Je ne les ai jamais observés libres dans le plasma du sang circulant.

Dans les préparations de sang à l'état frais, ils apparaissaient comme des corps ronds, réfringents, immobiles, à structure finement granuleuse. L'observation au paraboloïde permettait

de mettre en évidence, à l'intérieur des corpuscules, des grains très minces. Dans les frottis de sang fixés à l'alcool absolu et colorés au Giemsa, les susdites formations endoglobulaires apparaissaient colorées en rose, à contours bien délimités, avec des granulations très petites à l'intérieur, d'une coloration plus foncée, presque rouge, qui rappelait celle de la chromatine. Le protoplasme de l'érythrocyte apparaissait moins coloré autour

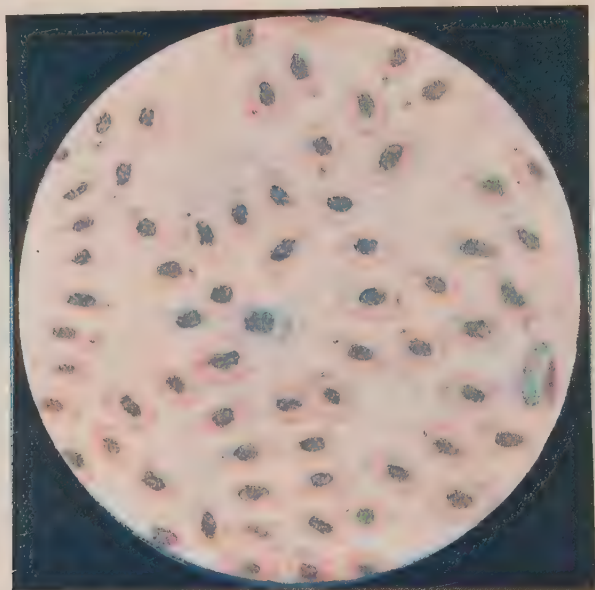


FIG. 1. — Présence de corpuscules endoglobulaires dans le sang des lézards. Objec. imm. 15 μ . Ocul. III.

de l'élément endoglobulaire, et on avait l'impression que celui-ci était entouré d'un mince halo d'une couleur rose plus pâle. Le noyau de l'hématie ne présentait pas d'altérations particulières et il n'avait aucun rapport de continuité ou de nature morphologique avec les corpuscules endoglobulaires (voir fig. 1). Ceux-ci ont été trouvés constamment dans le sang d'un *Lacerta viridis* pendant des observations successives pratiquées à des intervalles de plusieurs jours. J'ai aussi noté la présence des éléments endoglobulaires dans les frottis de foie, de rate et de reins, soit à l'intérieur des hématies, soit libres; négative au

contraire a été la recherche à l'intérieur des cellules hépatiques et dans l'épithélium rénal. Dans les frottis des susdits organes internes, je n'ai pas observé de corpuscules endoglobulaires en division, ni de formations pouvant rappeler un processus de multiplication.

Les essais d'infection de lézards par inoculation de sang contenant des corpuscules endoglobulaires ont été infructueux.

Des tentatives de culture dans un milieu composé de sang de lézard avec solution citratée de chlorure de sodium, selon la formule de Carpano pour la culture de *Nuttallia equi*, restèrent négatives.

Ces formations rappellent, au point de vue morphologique, les granulations paranucléaires trouvées par Bremer [1] et par Laveran [2] dans les tortues, par Lutz dans les oiseaux, par Sabrazès et Muratet [3] dans les poissons et par Billet [4] dans la *Tarentola algerina*; elles ont été dénommées par Laveran « corpuscules paranucléaires » et considérées comme de petits grains détachés du noyau, mais lui restant liés par des prolongements et des pédicules ayant les mêmes caractères de structure et de coloration. Les corpuscules endoglobulaires dans mes préparations, au point de vue structural et tinctorial, ne pouvaient être comparés au noyau des hématies; il faut aussi exclure que les susdits corpuscules soient le résultat d'une fixation défectueuse, parce qu'ils n'apparaissent jamais dans les frottis de sang d'autres lézards, faits dans le même temps et avec la même technique.

L'hypothèse de la nature parasitaire de ces formations si bien organisées, trouvées dans nombreux examens répétés à distance de plusieurs jours dans le sang du même lézard, restait douteuse; par conséquent, je les ai d'abord assimilés aux corps de Todd; mais cette hypothèse fut abandonnée lorsqu'on ne retrouva pas, dans les préparations à l'état frais, les cristaux caractéristiques à l'intérieur des corpuscules endoglobulaires. J'ai pensé ensuite à une forme d'anaplasme, mais l'absence d'éléments caractéristiques et de formes de reproduction ne parle pas en faveur de cette nouvelle hypothèse. Contre la nature infectieuse de ces corpuscules parleraient aussi mes tentatives négatives d'infection expérimentale et celles également négatives de culture artificielle; toutefois mes recherches dans cette

direction ne sont pas encore assez nombreuses pour qu'il soit aisé de poser de semblables conclusions d'une manière définitive.

On ne peut pas accepter, dans mes cas, l'opinion envisagée par Billet que les formations endoglobulaires peuvent être attribuées à des phénomènes de karyolysis, déterminée par la présence d'hémogrégaires avec expulsion consécutive de ces granulations du noyau, car il serait bien difficile d'expliquer pourquoi le *Karyolysis* aurait donné lieu à ce phénomène seulement chez 6 lézards, parmi tous ceux qui étaient infectés.

Et, partant, l'interprétation des formations endoglobulaires susdécrites est bien difficile et doit être l'objet de recherches ultérieures.

Mes meilleurs remerciements à M. le Professeur Mesnil qui a eu l'extrême obligeance d'examiner les préparations que je lui avais envoyées et de me donner de précieux renseignements.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BREMER. *Arch. f. mikrosk. Anat.*, 45, 1895, p. 433.
- [2] LAVERAN. *C. R. Soc. Biol.*, 1903, p. 504.
- [3] SABRAZÈS et MURATET. *C. R. Soc. Biol.*, 31 mars 1900.
- [4] BILLET. *C. R. Soc. Biol.*, 1904, p. 160.

SUR LES VARIATIONS DE LA TENEUR EN ZINC DES ANIMAUX AVEC L'ÂGE : INFLUENCE DU RÉGIME LACTÉ

par M. GABRIEL BERTRAND et M^{lle} Y. BEAUZEMONT.

Il a été reconnu par l'un de nous, en collaboration avec R. Vladesco, que la proportion de zinc contenue dans le corps des animaux varie d'une manière remarquable avec l'âge; que chez les mammifères, notamment, cette proportion présente un maximum au moment de la naissance, diminue peu à peu pendant la période d'alimentation lactée, la sécrétion mammaire étant très pauvre en métal, et remonte rapidement à partir du sevrage. La teneur en zinc reste à peu près constante chez les adultes, mais, plus tard, quand les animaux vieillissent, elle subit une nouvelle augmentation et arrive à dépasser celle de la naissance (1).

Comme il a été montré dans la suite, par des expériences sur la souris (2) et sur le rat (3), que le zinc intervient d'une manière utile dans les échanges nutritifs, la connaissance des variations que nous venons de rappeler présente une importance réelle au point de vue de l'élevage des enfants et de celui des jeunes animaux. Il semble, en effet, qu'une prolongation du régime lacté exclusif au delà de la période normale, ou son remplacement par un régime également pauvre en zinc, doivent entraîner le jeune organisme au dépérissement.

L'importance du fait de la diminution de teneur en zinc des mammifères pendant la période d'alimentation lactée n'a pas encore été bien comprise et nous sommes d'autant plus engagés

(1) Gab. BERTRAND et R. VLADESCO. *C. R.*, **172**, 1921, p. 768 et **173**, 1921, p. 54, ou *Bull. Soc. Chim.*, 4^e série, **29**, 1921, p. 736 et **31**, 1922, p. 268.

(2) Gab. BERTRAND et B. BENZON. *C. R.*, **175**, 1922, p. 289 et, avec plus de détail, *Bull. Soc. Chim. biol.*, **8**, 1924, p. 203 ou *Ces Annales*, **38**, 1924, p. 405.

Gab. BERTRAND et H. NAKAMURA, *C. R.*, **179**, 1924, p. 129; R. HUBBELL et LAF. MENDEL, *J. Biol. Chem.*, **75**, 1927, p. 567.

(3) MAC HARGUE. *Amer. J. Physiol.*, **77**, 1926, p. 245.

à y revenir que plusieurs expérimentateurs américains ont publié récemment des résultats et surtout des conclusions qui semblent l'infirmar.

Lutz, ayant analysé dix rats élevés dans son laboratoire et dont l'âge allait de vingt et un à cent-soixante jours, a trouvé des concentrations à peu près constantes en zinc (0 milligr. 022 à 0 milligr. 036 par gramme) (1). De même Fairhall, chez six rats âgés approximativement de dix-sept mois (0 milligr. 032 à 0 milligr. 036 par gramme) (2). De leur côté, Thompson, Marsh et Drinker ont examiné des rats nouveau-nés, des rats âgés de soixante jours et des rats adultes de quatre cent cinquante jours; ils ont dosé respectivement 0 milligr. 038, 0 milligr. 039 et 0 milligr. 040 de zinc par gramme d'animal; tenant compte de ces résultats et, en même temps, de ceux de Lutz et de Fairhall, ils ont conclu que « la concentration moyenne normale en zinc des rats blancs ne varie pas d'une façon significative aux différents âges » (3).

R. Hubbell et Laf. Mendel, enfin, ayant étudié six lots de souris âgées les unes d'un jour, les autres de vingt-deux, de trente-cinq, de cinquante, de soixante-dix et de cent soixante-quinze à trois cents jours, ont obtenu des « teneurs moyennes en zinc allant de 0 milligr. 024 à 0 milligr. 030 par gramme de souris, le chiffre le plus bas étant pour l'animal à la naissance et le plus haut pour ceux d'un âge avancé ». Ils ont noté, en outre, que la teneur en métal variait très peu pour les animaux pris de vingt-deux à soixante-dix jours, dans la période de croissance active (4).

Si, laissant de côté les conclusions, on pénètre dans le détail des publications américaines, on peut faire deux parts des déterminations quantitatives qu'elles renferment : celle qui a trait aux animaux dont l'âge est compris entre le moment de la naissance et le jour du sevrage (environ le vingt et unième) et celle qui se rapporte aux animaux étudiés depuis le sevrage jusqu'à la vieillesse. On voit alors que la première

(1) *J. Indust. Hyg.*, 8, 1926, p. 177, d'après P. THOMPSON, M. MARSH et K. DRINKER (*Amer. J. Physiol.*, 80, 1927, p. 64).

(2) Publié seulement dans THOMPSON, MARSH et DRINKER, *loc. cit.*

(3) *Loc. cit.*

(4) *Loc. cit.*

part ne comporte que les quatre déterminations suivantes :

ZINC TROUVÉ
en milligrammes pour 100 grammes

De Thompson, Marsh et Drinker, chez des rats nouveau-nés.	De 3 à 5,1 (en moyenne 3,8).
De Lutz, chez le rat de vingt et un jours.	Entre 2,2 et 3,6.
De Hubbell et Mendel, chez des souris d'un jour	En moyenne 2,1.
Et de Hubbell et Mendel, chez deux souris de vingt-deux jours.	2,4 et 2,7.

Même si ces déterminations ont été obtenues avec une méthode aussi exacte que celle dite au « zincate de calcium », ce qui paraît douteux, elles ne justifient pas la généralité des

AGE des animaux	NOMBRE D'INDIVIDUS analysés	POIDS TOTAL en grammes	EAU P. 100	ZINC en milligrammes dans		
				un individu entier	100 grammes de matières fraîches	100 grammes de matières sèches
1 jour	18	403,7	82,94	0,373	6,47	37,51
2 jours	17	110,0	82,37	0,336	5,19	29,41
5 jours	8	71,4	77,04	0,393	4,43	19,29
10 jours	6	81,4	74,25	0,371	2,73	9,50
15 jours	7	405,2	73,86	0,411	2,73	10,44
18 jours	5	75,0	75,27	0,429	2,87	11,60
20 jours	4	62,15	71,20	0,536	3,28	11,38
25 jours	2	23,2	67,43	1,337	3,75	11,51
6 semaines	2	58,7	72,75	1,094	3,73	13,67
3 mois	1	69,95	66,67	2,714	3,88	11,64
7 mois	1	120,9	69,01	3,808	3,45	10,16

conclusions que leurs auteurs en ont tirées, elles ne portent pas sur des sujets non sevrés assez nombreux et variés pour infirmer le fait de la diminution progressive de la teneur en zinc de l'organisme pendant la période d'alimentation lactée. Ce fait constaté par l'un de nous avec Vladesco, dans plusieurs séries d'expériences sur le lapin et sur la souris, est encore consolidé par les expériences sur le rat blanc que nous apportons aujourd'hui.

Les animaux qui nous ont servi dans cette nouvelle série d'expériences provenaient tous d'un élevage fait au laboratoire. Ils étaient nourris avec du grain d'avoine et du pain mouillé, auxquels on ajoutait un peu de luzerne fraîche ou, à défaut,

l'hiver, de racine de betterave. Les individus choisis étaient tués par le chloroforme; l'intestin toujours vidé de son contenu. Après dessiccation à 100°, pour le dosage de l'eau, la destruction des matières organiques était effectuée par chauffage, dans des matras en verre Pyrex, avec un mélange d'acides sulfurique et nitrique purifiés par nous. Une partie du mélange d'acides servait à dissoudre ce qui adhérait à l'intérieur de la capsule de porcelaine, dans laquelle avait eu lieu la dessiccation, avant d'être introduite dans le matras. Lorsque la destruction était complète, la solution était évaporée à sec dans une capsule de porcelaine, le résidu repris par HCl et le dosage réalisé par la méthode pondérale au zincate de calcium (1).

Le tableau ci-joint résume les résultats obtenus.

Ainsi, tandis que le poids moyen des jeunes rats blancs a passé, du premier au dixième jour, de 5 gr. 76 à 13 gr. 6, c'est-à-dire a augmenté dans le rapport d'environ 1 à 2 1/2, la teneur totale en zinc n'a pas changé d'une manière appréciable. En conséquence, la proportion du métal a diminué d'autant, elle est devenue environ deux fois et demie plus petite qu'au moment de la naissance. Puis, sous l'influence d'un sevrage partiel d'abord, total ensuite, l'organisme a récupéré très vite la proportion déficiente de métal. Cette proportion s'est fixée vers 3 milligr. 1/2 pour 100 grammes de matière vivante et s'est maintenue telle malgré l'accroissement de poids du corps qui, au septième mois, était 21 fois plus élevé qu'à la naissance.

Ces résultats confirment, en les étendant à une nouvelle espèce animale, ceux que nous avons rappelés au commencement de la présente note. Il apparaît ainsi de plus en plus évident que le lait, déjà pauvre en fer, en manganèse, en cuivre, etc., ne renfermant pas plus de quelques millièmes de zinc, ne peut suffire longtemps aux besoins d'un mammifère en voie de croissance; il arrive donc un moment où ces besoins doivent être couverts par une alimentation plus riche en métaux. Ce moment est marqué chez les espèces animales par le sevrage naturel. A l'homme de bien connaître les particularités de ce phénomène et d'en tirer profit pour l'alimentation rationnelle des nouveau-nés.

(1) Gab. BERTRAND, *C. R.*, **115**, 1892, p. 939 et 1028; Gab. BERTRAND et M. JAVILLIER, *Bull. Soc. Chim.*, 4^e série, **1**, 1906, p. 63 et **3**, 1908, p. 114. Voir aussi : Gab. BERTRAND et M. MOKRAGNATZ, *Bull. Soc. chim.*, 4^e série, **33**, 1923, p. 1539.

**RECHERCHES SUR LA TEMPÉRATURE CRITIQUE
DU SÉRUM.
MESURE DU FACTEUR DE DÉPOLARISATION.
MÉCANISME DE LA COAGULATION PAR LA CHALEUR**

(QUATRIÈME MÉMOIRE)

par M. P. LECOMTE DU NOÛY.

INTRODUCTION.

Il est peut-être bon de rappeler, dès le début de cet article, la signification du facteur de dépolarisation, et d'indiquer, en quelques lignes, les raisons pour lesquelles ces mesures ont été entreprises.

Nous avons montré dans un précédent mémoire (1) que l'étude de la lumière diffusée à angle droit permettait de suivre l'accroissement du volume des molécules dans le sérum en fonction de la température, et que cette méthode était beaucoup plus sensible que celle qui consiste à mesurer la densité optique du sérum. Or, la lumière ainsi diffusée est, on le sait, polarisée. La théorie de Lord Rayleigh rend compte de ce résultat, et prévoit que, pour les solutions colloïdales dont les particules sont petites par rapport à la longueur d'onde de la lumière, optiquement isotropiques et distribuées au hasard, la lumière doit être complètement polarisée à 90°. Cette théorie cesse de s'appliquer quand les particules sont grosses et irrégulières. Mie (2), en considérant des particules *sphériques* (particulièrement des suspensions colloïdales d'or), est arrivé à certaines conclusions que l'on peut résumer ainsi : Tant que les particules sont petites (de l'ordre de 100 $m\mu$, soit 1.000 Ångströms) la distribution de l'énergie suit la formule de Lord

(1) L. DU NOÛY. Ces *Annales*, 44, 1930, p. 109.

(2) *Ann. der Physik*, 25, 1908, p. 377.

Rayleigh, et le faisceau diffusé à angle droit est complètement polarisé, rectilinéairement (jamais elliptiquement). Lorsque ce faisceau n'est pas complètement polarisé, c'est l'indication de la présence de plus grosses particules dans la solution. Quand les particules atteignent un diamètre de $130\text{ }\mu$, la polarisation n'est plus que de 90 p. 100. Dans ce cas, on constate un déplacement de la direction du maximum de polarisation. Finalement, Mie explique la couleur des sols d'or par les dimensions des grains.

Mais on a démontré que ces explications étaient insuffisantes et qu'il y avait lieu d'introduire un élément nouveau dans les calculs, à savoir la forme de la particule. Gans (1) s'est efforcé de résoudre les difficultés mathématiquement, et, en ne considérant que des particules dont les dimensions sont petites par rapport à la longueur d'onde de la lumière, il arrive aux conclusions suivantes : 1° l'aspect de la courbe d'absorption dépend largement de la forme des particules; 2° la lumière diffusée latéralement par une solution colloïdale est complètement polarisée rectilinéairement quand les particules sont sphériques; elle est partiellement dépolarisée quand leur forme est différente, et la quantité de lumière dépolarisée est d'autant plus grande que la forme des particules s'écarte davantage de la sphère. La mesure de la quantité de lumière dépolarisée — ou de son rapport à la quantité de lumière polarisée (facteur de dépolarisation $=\rho$) — permettrait donc de déterminer un des éléments de la forme des particules. Enfin, la quantité de lumière dépolarisée dépend aussi de la dimension des particules.

Se basant sur les travaux précédents, Krishnamurti (2) a étudié des solutions d'agar, et en conclut à de légers changements dans la forme des granules, suivant la température, entre les états de gel et de sol. Malheureusement, le fait que le volume des particules joue également un rôle dans la dépolarisation empêche de se faire une idée quantitative du phénomène. Il faut donc se défier des conclusions hâtives.

Le rôle de la forme des particules, malgré les travaux pré-

(1) *Ann. der Physik*, **37**, 1912, p. 881; **47**, 1915, p. 270; **62**, 1920, p. 331; *Zeitschr. Physik*, **17**, 1923, p. 353; **30**, 1924, p. 231.

(2) *Proceed. Roy. Soc.*, ser. A, **122**, 1929, p. 76.

cités, est encore mal connu. On ne peut affirmer que, dans tous les cas, l'asymétrie géométrique, ou, si l'on veut, l'accroissement d'un diamètre privilégié par rapport aux autres, influe systématiquement sur le facteur de dépolarisation. Cabannes (1) a montré que, dans la série des hydrocarbures à chaîne ouverte, sans ramifications, lorsqu'on passe du méthane à ses homologues supérieurs, la dépolarisation reste très faible et à peu près constante. Malgré l'allongement de la chaîne, du méthane à l'octane, l'anisotropie (exprimée par le facteur de dépolarisation) varie peu (méthane, $100 \rho = 1,5$; octane, $100 \rho = 1,8$). C'est donc que l'anisotropie n'est pas directement liée à la forme géométrique de la molécule, tout au moins dans ce cas. De plus, les travaux de Gans et de Mie ont porté principalement sur les sols métalliques à particules opaques. *On ne peut généraliser ces résultats aux molécules telles que les protéines qui jouissent vis-à-vis de la lumière de propriétés totalement différentes.*

De toutes façons, si l'on ne peut à coup sûr se baser sur la seule détermination de ρ pour en tirer des informations sur la géométrie de la molécule, tout au moins peut-on en tirer des renseignements directs sur l'anisotropie moléculaire. Et cela sans qu'on ait à orienter les molécules par un champ électrique ou magnétique auxiliaire, comme le fait remarquer Cabannes (2).

Le fait capital qu'il importe de rappeler au début de ce mémoire est que les particules ultra-microscopiques sont généralement sphériques et isotropes, et qu'elles diminuent donc la valeur de ρ . *Un liquide qui diffuse une lumière à peu près complètement polarisée est une solution colloïdale et non un liquide homogène* (3).

Or, nous avons déjà exprimé quantitativement l'accroissement des particules dans le sérum, en fonction de la température et du temps de chauffage. Nous avons donc pensé qu'il serait intéressant d'étudier le facteur de dépolarisation dans l'espoir d'en tirer une information précise en ce qui concerne la façon dont se produit l'augmentation de volume des particules de sérum, par hydratation d'abord, et, suivant l'opinion géné-

(1) *La diffusion moléculaire de la lumière*. Paris, 1929, p. 135.

(2) *Loc. cit.*, p. 107.

(3) CABANNES, *loc. cit.*, p. 184.

ralement admise, par agrégation avec d'autres molécules ensuite. Les molécules d'eau s'adsorbent-elles indifféremment sur toutes les faces de la « molécule de sérum », simultanément, de sorte que la symétrie de la molécule reste invariable tandis qu'elle s'accroît, ou bien au contraire les molécules d'eau viennent-elles se fixer de préférence à un ou deux points de la molécule changeant ainsi sa forme en accroissant un de ses axes par rapport aux autres? Et, en général, pouvons-nous préciser notre connaissance encore vague du processus d'adsorption et nous faire une idée plus claire du phénomène de coagulation du sérum par la chaleur?

C'est dans le but d'essayer de jeter un peu de lumière sur ces faits importants que nous avons entrepris les expériences décrites dans le présent mémoire.

DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL.

Nous avons eu recours au photomètre de Vernes, Bricq et Yvon, que nous avons déjà employé dans nos expériences précédentes, mais nous avons dû y introduire quelques modifications afin de l'adapter aux problèmes nouveaux que nous nous proposons d'étudier (1) [fig. 1].

Tout d'abord, la luminosité de l'appareil fut augmentée de huit fois. De plus, deux nicols orientés à 90° l'un de l'autre furent disposés sur le trajet du rayon diffusé, et montés sur un chariot de façon à pouvoir être rapidement mis en service afin d'analyser la lumière. On décida d'employer deux nicols fixés dans une position invariable, plutôt qu'un nicol pouvant subir une rotation de 90°, pour des raisons de construction et de manœuvre. De cette façon, le rapport du flux dépolarisé au flux polarisé verticalement pouvait être déterminé en mesurant les valeurs de $\log \frac{I_0}{I}$ après interposition des deux nicols successivement, sans qu'il y eût à faire intervenir l'absorption par les nicols, cette absorption étant la même dans les deux cas. Il fallut enfin interposer un écran diffusant blanc sur le

(1) L'auteur exprime ses remerciements aux constructeurs, MM. Jobin et Yvon et à M. Tardy, ingénieur, pour leur précieuse collaboration dans l'étude et la réalisation de ces modifications.

parcours du trajet de I_0 de façon à comparer entre elles deux sources comparables. La figure 1 montre le dispositif employé. On voit que les deux objectifs O_1 et O_2 prennent comme sources respectives la solution diffusante X et l'écran diffusant P et que l'image se forme sur le diaphragme K.

La source employée fut, en général, une lampe à filament de tungstène de projection de 450 watts (1); cette intensité était nécessaire pour pouvoir effectuer des mesures de lumière dépola-

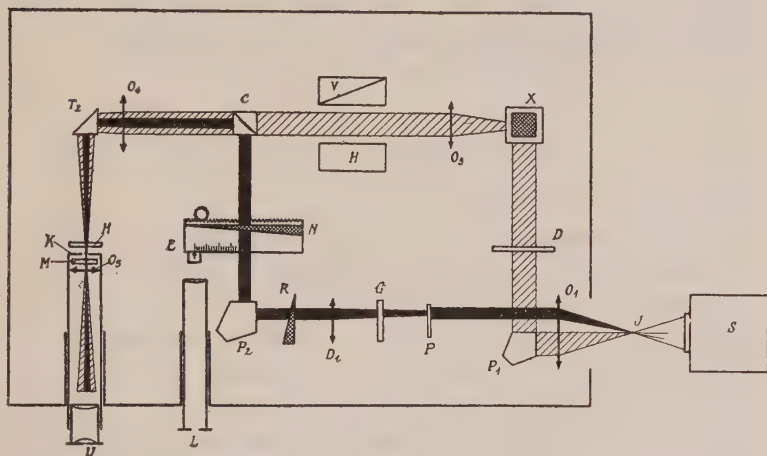


FIG. 1. — Schéma du photomètre V. B. Y., montrant les principales modifications introduites : 1° l'addition d'un écran diffusant blanc P au foyer d'un objectif D_1 ; 2° l'addition de deux nicols V et H sur le trajet du flux diffusé par la solution X.

larisée, extrêmement faible, dans le cas du sérum normal. Nous avons employé également dans certains cas une lampe à ruban de tungstène, consommant 18 ampères sous 6 volts.

Étant donné l'extrême faiblesse de la lumière dépolarisée, qui représente, pour le sérum, jusqu'à 55° , environ 1 p. 100 de la lumière diffusée, laquelle n'est elle-même que de l'ordre de $1/800.000$ de la lumière incidente, nous avons été amené à utiliser un écran bleu au lieu de l'écran rouge, lequel est moins lumineux. On sait, en effet, que l'intensité de la lumière diffusée est proportionnelle à l'inverse de la quatrième puissance de la longueur d'onde. Le tableau suivant (2) montre

(1) Gracieusement fournie par la Société des lampes Yvel.

(2) Extrait de *La diffusion moléculaire de la lumière*. J. CABANNES. Paris, 1929.

l'importance que prennent les radiations de grande fréquence dans le rayonnement diffusé :

λ (Ångströms).	2.000	4.000	6.000	8.000	10.000
Nombres proportionnels à λ^{-4}	635	39	7,7	2,4	1

L'écran rouge correspondant a une valeur moyenne de $\lambda = 6.900 \text{ Å}$ (Wratten), tandis que l'écran bleu n° 45 — H (Wratten) correspond à $\lambda = 4.800 \text{ Å}$; on se rend aisément compte du gain obtenu. Sauf indication contraire, les chiffres que nous publions ont été obtenus avec l'écran bleu H.

La formule employée pour les lectures était :

$$(n + g - d) \times e = \log \frac{I_0}{I}$$

ou n = lectures à l'échelle.

g = valeur des surcharges sur le flux I_1 (gauche).

d = valeur des surcharges sur le flux I_2 (droite).

e = correction due à l'écran monochromatique.

La valeur de e pour l'écran α est 1; pour l'écran bleu (H) 1,27. Pour l'écran rouge F : 1,13 (λ moyen = 0,675).

Nous avons vérifié que la température du liquide, au moment de la mesure, n'influe pas sensiblement sur les mesures. Les mêmes lectures furent obtenues à 10°, à 20° et à 40°.

DÉTERMINATION DU FACTEUR DE DÉPOLARISATION. — 1° *Définition*. — Soit I_v l'intensité du faisceau diffusé dans une certaine direction, après avoir traversé un nicol qui laisse passer sans les affaiblir les vibrations verticales.

Soit I_H l'intensité de ce même faisceau après traversée d'un nicol qui laisse passer sans les affaiblir les vibrations horizontales.

Le rapport $\rho = \frac{I_H}{I_v}$ s'appelle facteur de dépolarisation.

Si le faisceau diffusé est complètement polarisé rectilignement avec vibrations verticales, $I_H = 0$, donc $\rho = 0$. Si le faisceau diffusé est complètement dépolarisé, c'est-à-dire formé de lumière naturelle, $I_H = I_v$, donc $\rho = 1$. En définitive, ρ est toujours compris entre 0 et 1 et sa valeur est d'autant plus élevée

TABLEAU I. — Expérience 5. Sérum normal de cheval. Filtre bleu H.

TEMPÉRATURE	TEMPS	Log. $\frac{I_0}{I}$						FACTEUR de dépolariisation ρ
		Lumière normale		Lumière polarisée verticalement		Lumière dépolariisée		
		Lect.	Corr.	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.	
Non chauffé . . .	minutes	4,87	2,38	2,02	2,56	2,92	4,23	0,0214
55°.	5	1,88	2,39	2,02	2,56	2,00	4,33	0,0170
	10	1,88	2,39	2,02	2,56	2,00	4,33	0,0170
	20	1,88	2,39	2,02	2,56	2,00	4,33	0,0120
	40	1,83	2,32	2,00	2,54	2,04	4,38	0,0162
	60	1,70	2,25	1,92	2,44	1,80	4,08	0,0236
56°.	5	1,88	2,39	2,05	2,60	1,95	4,26	0,0219
	10	1,87	2,38	2,04	2,59	1,95	4,26	0,0214
	20	1,80	2,29	1,98	2,51	1,95	4,26	0,0178
	40	1,72	2,18	1,87	2,37	1,75	4,01	0,0230
	60	1,69	2,15	1,83	2,32	1,75	4,01	0,0204
57°.	5	1,88	2,39	2,02	2,56	2,00	4,33	0,0170
	10	1,82	2,31	1,98	2,51	1,95	4,26	0,0178
	20	1,73	2,20	1,88	2,39	1,84	4,14	0,0178
	40	1,60	2,03	1,78	2,26	1,67	3,91	0,0224
	60	1,60	2,03	1,77	2,25	1,68	3,92	0,0214
58°.	5	1,88	2,39	2,04	2,59	2,02	4,35	0,0174
	10	1,81	2,30	1,95	2,48	1,90	4,20	0,0191
	20	1,65	2,10	1,81	2,30	1,72	3,98	0,0209
	40	1,47	1,87	1,64	2,08	1,45	3,63	0,0295
	60	1,46	1,85	1, 1	2,04	1,43	3,61	0, 269
Normal	5	1,68	2,13	1,84	2,34	1,80	4,08	0,0182
59° (sér. diff.) 18/2.	10	1,63	2,07	1,79	2,27	1,78	4,05	0,0166
	20	1,58	2,01	1,73	2,20	1,64	3,88	0,0209
	40	1,46	1,85	1,62	2,06	1,34	3,50	0,0355
	60	1,31	1,66	1,47	1,87	1,12	3,21	0,0458
	60	1,23	1,56	1,40	1,78	1,90	2,93	0,0708
60°.	5	1,63	2,07	1,80	2,28	1,70	3,95	0,0214
	10	1,51	1,92	1,67	2,12	1,48	3,67	0,0282
	20	1,31	1,69	1,49	1,89	1,19	3,31	0,0381
	40	1,21	1,54	1,36	1,73	2,28	2,93	0,0677
	60	1,18	1,50	1,34	1,70	2,16	2,74	0,0913
62°.	5	1,44	1,83	1,62	2,06	2,86	3,63	0,0270
	10	1,32	1,67	1,50	1,90	2,53	3,21	0,0490
	20	1,20	1,52	1,37	1,74	2,30	2,92	0,0661
	40	0,98	1,24	1,18	1,50	1,86	2,36	0,139
	40	0,98	1,24	1,18	1,50	1,86	2,36	0,139
64°.	5	1,36	1,73	1,51	1,92	2,58	3,28	0,0337
	10	1,15	1,46	1,32	1,68	2,22	2,82	0,0725
	20	0,96	1,22	1,17	1,48	1,79	2,27	0,1290
	40	0,94	1,19	1,17	1,48	1,62	2,06	0,2640
	40	0,94	1,19	1,17	1,48	1,62	2,06	0,2640
Normal	5	1,74	2,21	1,89	2,40	1,85	4,15	0,0178
66°.	10	1,21	1,54	1,39	1,76	2,24	2,84	0,0832
Demi-coagulé . .	20	1,02	1,29	1,24	1,58	1,82	2,31	0,1860
Coagulé	20	0,91	1,16	1,15	1,46	1,54	1,96	0,2510
68°.	5	0,98	1,24	1,18	1,50	1,89	2,40	0,100
Coagulé	10	0,90	1,14	1,15	1,46	1,46	1,85	0,467
Coagulé	20	0,89	1,13	1,18	1,50	1,40	1,78	0,525

que le faisceau diffusé contient moins de lumière polarisée verticalement. (Par verticalement, nous entendons dans un plan perpendiculaire au plan contenant le faisceau incident et le faisceau diffusé.)

2° *Mesure avec le photomètre.* — Le nicol qui éteint les vibrations verticales est mis en service sur le parcours I₂. L'égalité photométrique est réalisée. Soit Δ la lecture correspondante, compte tenu des surcharges introduites. Le nicol qui éteint les vibrations horizontales est ensuite mis en service. L'égalité photométrique est à nouveau réalisée : soit δ la lecture correspondante. Le facteur de dépolariisation est donné par la formule simple :

$$\log \rho = - (\Delta - \delta)$$

*
* *

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX. — Le tableau I exprime les résultats expérimentaux d'une série d'expériences, à différentes températures, pour des temps de chauffage différents. Les mesures étaient effectuées après refroidissement à 20° en moyenne.

On se rend compte, d'après ce tableau, de l'avantage qu'il y a à représenter les résultats expérimentaux au moyen de courbes, non seulement à cause des difficultés typographiques, mais surtout à cause de la clarté beaucoup plus grande de ces dernières. A moins de nécessité, nous emploierons donc surtout la méthode graphique pour exprimer nos résultats.

On constate dans ce tableau, comme dans le tableau suivant, que les lectures, pour le sérum normal, sont parfois un peu plus basses que celles obtenues dans le même sérum après chauffage à 54° ou 56°. Les lectures exprimant le rapport $\log \frac{I_0}{I}$, cela signifie que la quantité de lumière diffusée est légèrement plus grande qu'après chauffage. La différence est de l'ordre de grandeur des erreurs d'expériences en général, mais parfois elle correspond à un phénomène net. Néanmoins, à partir de 57°, pour des chauffages de dix minutes, la diminution, déjà signalée dans notre précédent mémoire, commence et se poursuit régulièrement. Nous avons déjà fait remarquer

dans le mémoire précité que pour des chauffages prolongés — quarante et soixante minutes — le phénomène d'accroissement du volume des molécules, bien qu'identique en principe, ne s'exprimait plus par une droite. Un long chauffage introduit

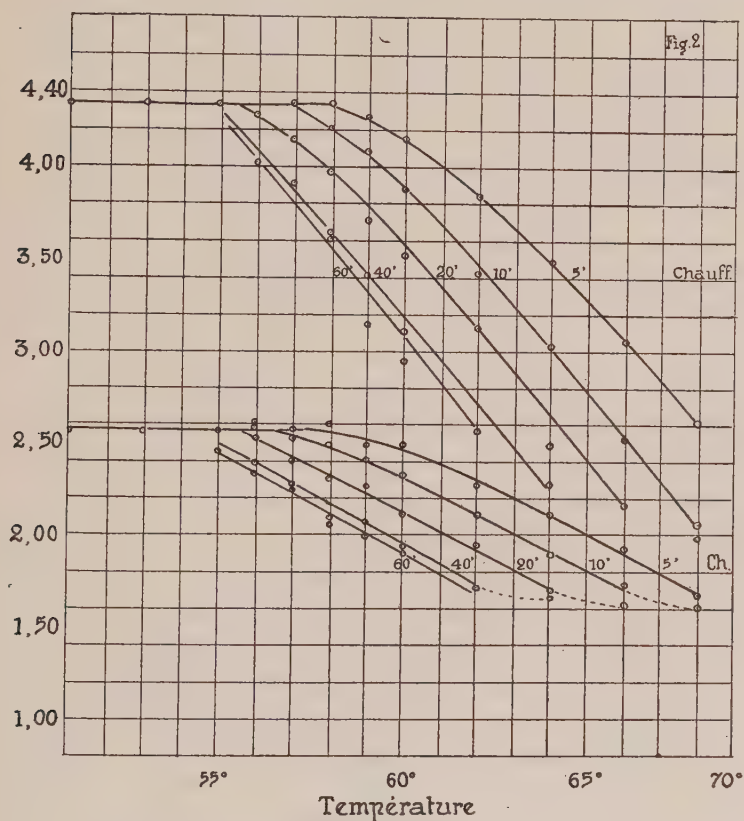


FIG. 2. — Courbes représentant les lectures corrigées pour les surcharges et l'écran H (Wratten). Lumière diffusée dépolarisée et polarisée verticalement pour différents temps de chauffage, de cinq à soixante minutes, en fonction de la température. (Mesures faites à 20°.)

donc un phénomène supplémentaire. D'autre part, les courbes étant sensiblement parallèles, il n'y a pas intérêt à chauffer plus de dix minutes, c'est pourquoi dans les autres protocoles nous nous sommes borné à ce temps.

On constate d'assez grandes variations dans la valeur de ρ aux températures inférieures à 58°. Elles sont dues surtout à la

grande difficulté rencontrée dans les mesures du rapport $\log \frac{I_o}{I}$ quand le nicol arrêtant les vibrations verticales est mis en service. La quantité de lumière qui passe est alors extrê-

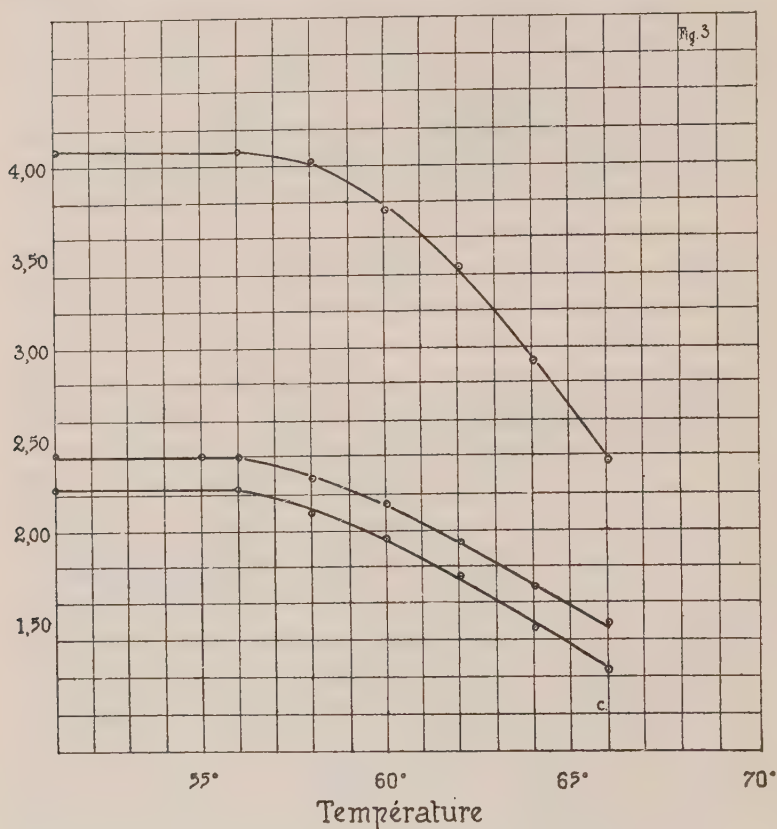


FIG. 3. — Lectures corrigées, lumière dépolarisée, polarisée verticalement et naturelle (sans interposition de nicol). Chauffage de dix minutes, en fonction de la température.

mement faible (de l'ordre de $1/50.000.000$ de la lumière incidente) et l'égalité des plages, très obscures, ne peut se faire avec précision. Les lectures exprimées représentent des valeurs moyennes entre deux extrêmes. Elles ne deviennent faciles que quand le sérum a subi un chauffage à 58° environ.

La figure 2 montre l'allure du phénomène pour différents

temps de chauffage (lumière polarisée verticalement et lumière dépolarisée, courbes supérieures). La figure 3 montre les résultats pour un même temps de chauffage (dix minutes). Les ordonnées représentent $\log \frac{I_0}{I}$. Pour obtenir les valeurs

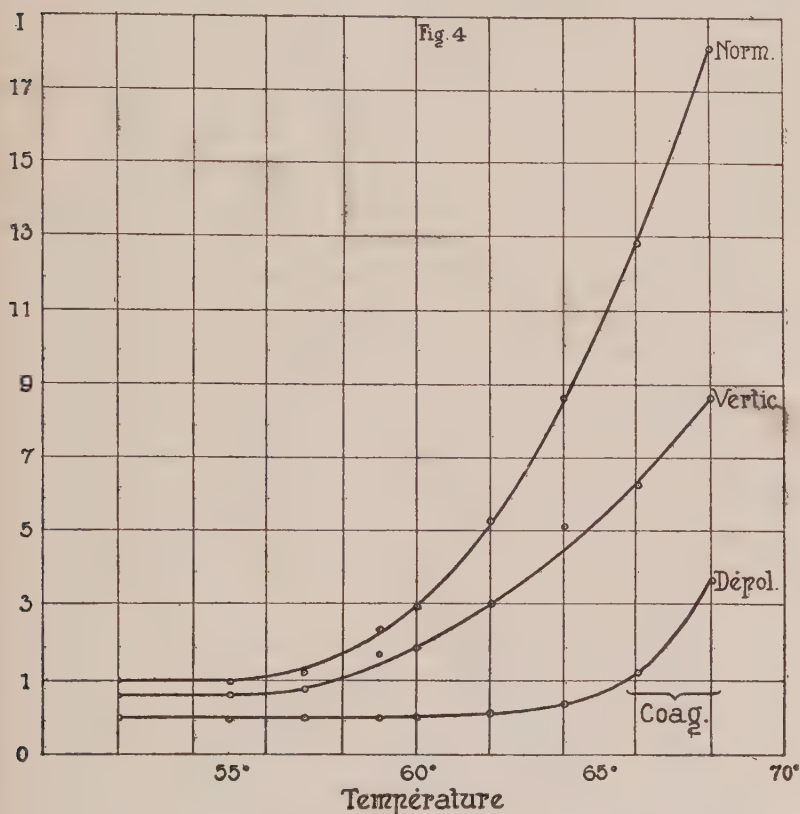


FIG. 4. — Lumière diffusée I , calculée d'après $n_0 - n = I$, où n_0 est la lecture obtenue pour le sérum normal et n les lectures successives en fonction de la température.

absolues dans les conditions de nos expériences, il suffit d'établir la valeur du rapport $\log \frac{I}{I_0}$ pour un diffusant déterminé, avec des surcharges connues, et d'ajouter algébriquement la valeur trouvée à la lecture n . Par exemple, pour la lumière normale, la valeur absolue de $\log \frac{I}{I_0}$ pour un sérum normal

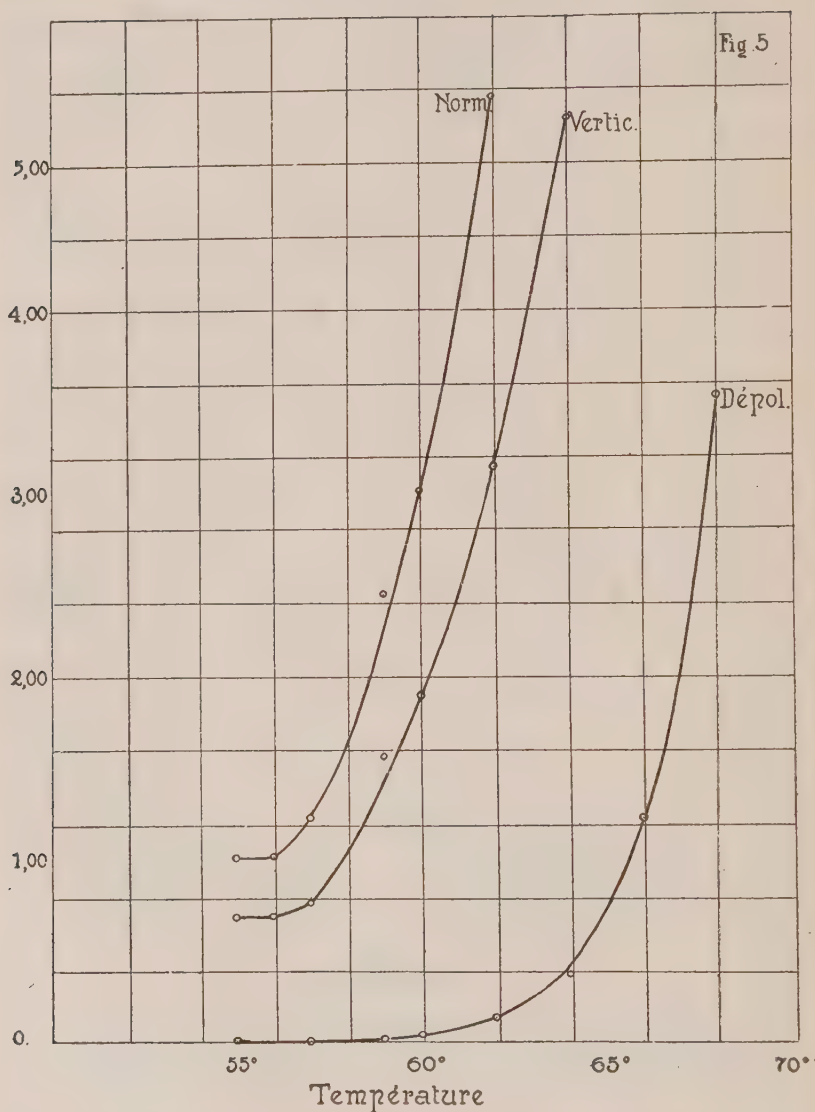


FIG. 5. — Mêmes courbes que celles de la figure précédente (n° 4) à une autre échelle, mettant en évidence le départ brusque des courbes.

(expérience n° 9) était de $-5,76$; $\frac{I}{I_0} = 1/575.000$. Pour ce même sérum, la valeur absolue de $\frac{I}{I_0}$ en lumière dépolarisée était

de 1/36.000.000. L'examen des figures permet de se rendre compte de la grande rapidité d'accroissement de ce dernier rapport.

La figure 4 représente l'accroissement de la lumière diffusée

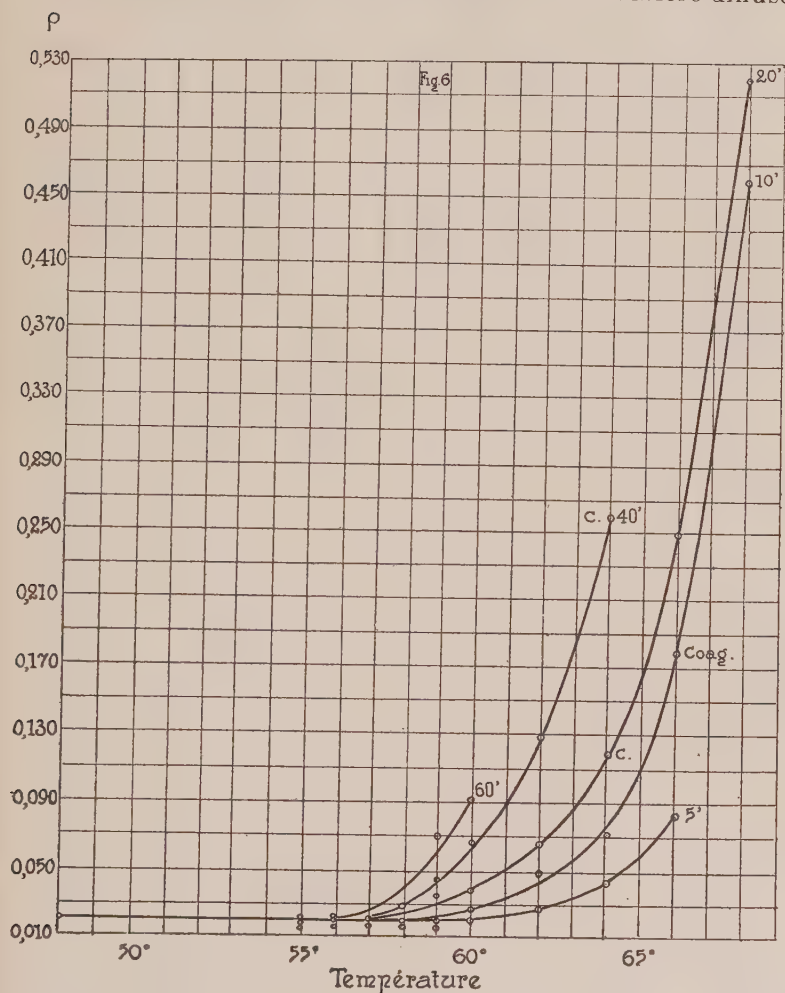


FIG. 6. — Courbes représentant l'accroissement du facteur de dépolari-sation ρ en fonction de la température pour des temps de chauffage diffé-rents. La lettre C indique la coagulation.

(normale, polarisée verticalement et dépolari-sée) en fonction de la température. La figure 5 représente les mêmes valeurs, mais à une échelle différente qui met en évidence la soudaineté de l'accroissement après 56°.

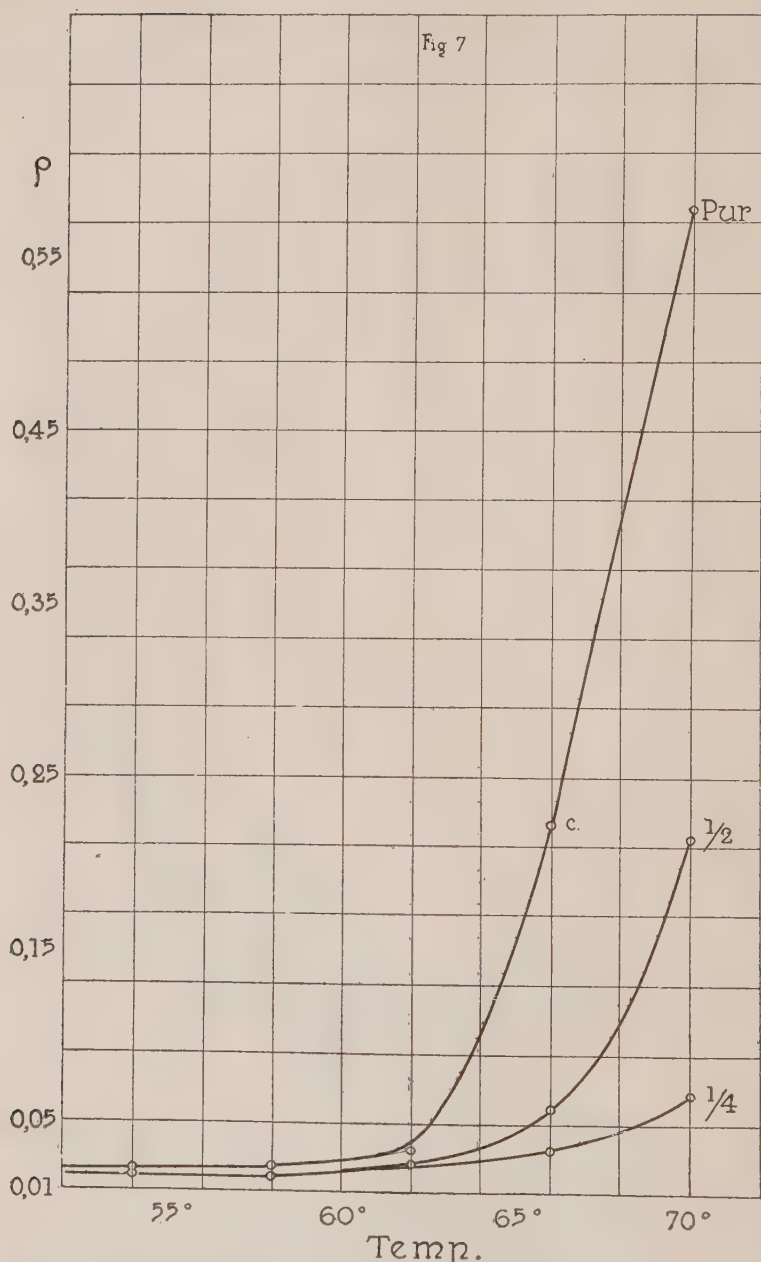


FIG. 7.— Accroissement du facteur de dépolarisation ρ en fonction de la température, pour du sérum pur, et dilué de 50 p. 100 et de 75 p. 100 de solution physiologique (chauffage : dix minutes).

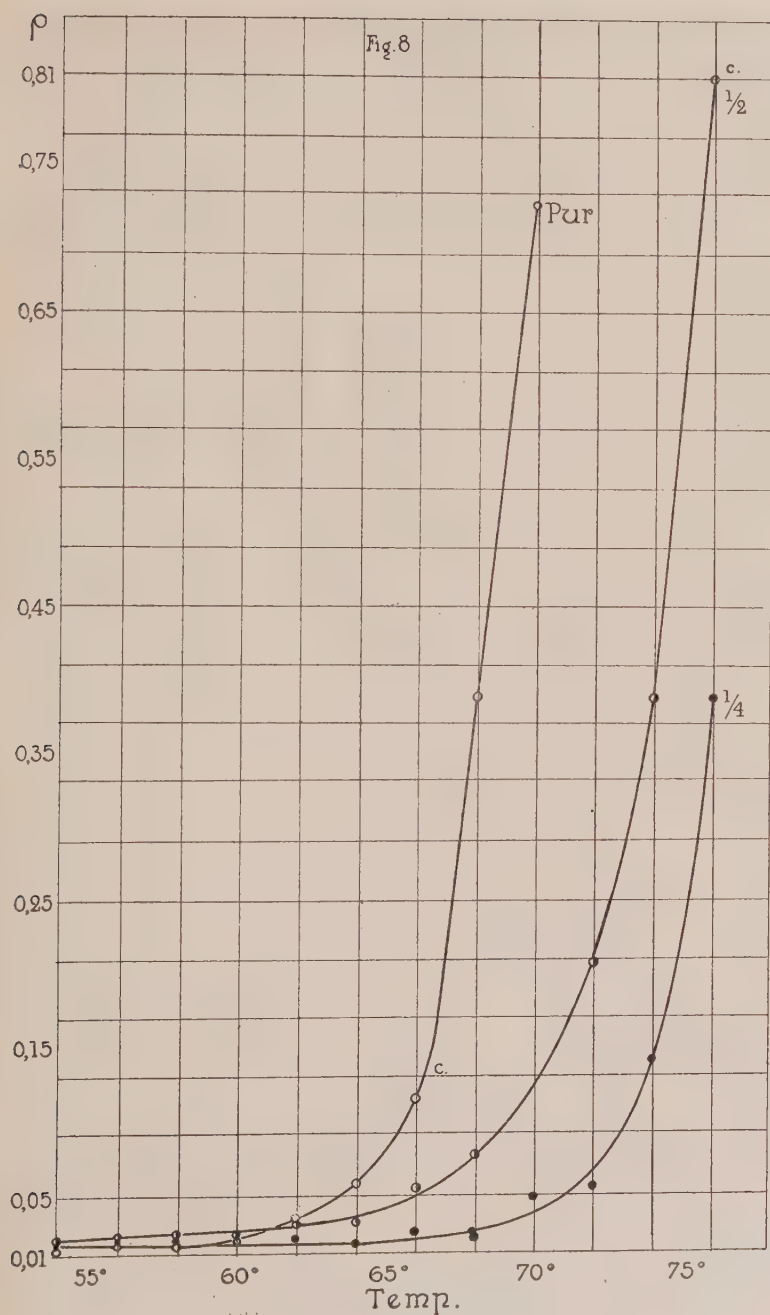


FIG. 8. — Facteur de dépolarisation en fonction de la température (sérum pur et dilué).

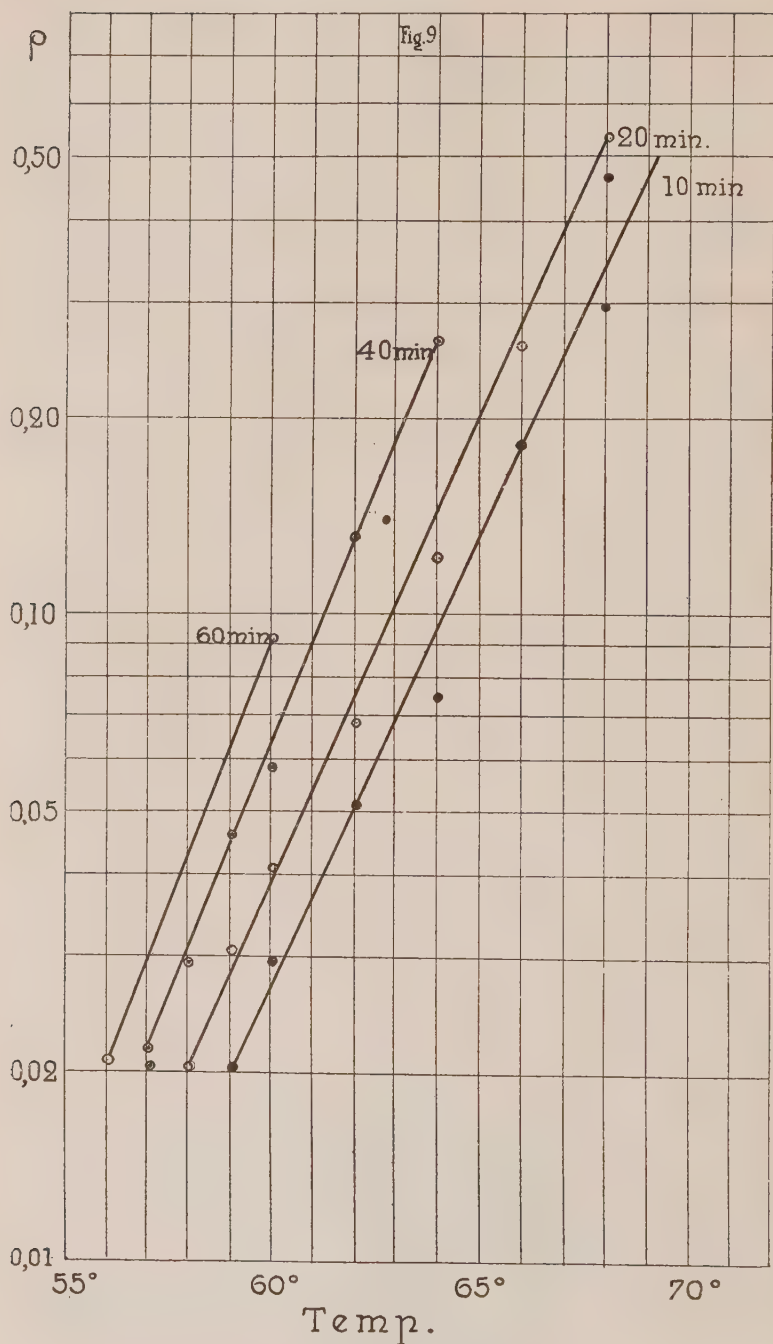


FIG. 9. — Accroissement du facteur de dépolarisation en fonction de la température (dix minutes de chauffage) sur papier semi-logarithmique.

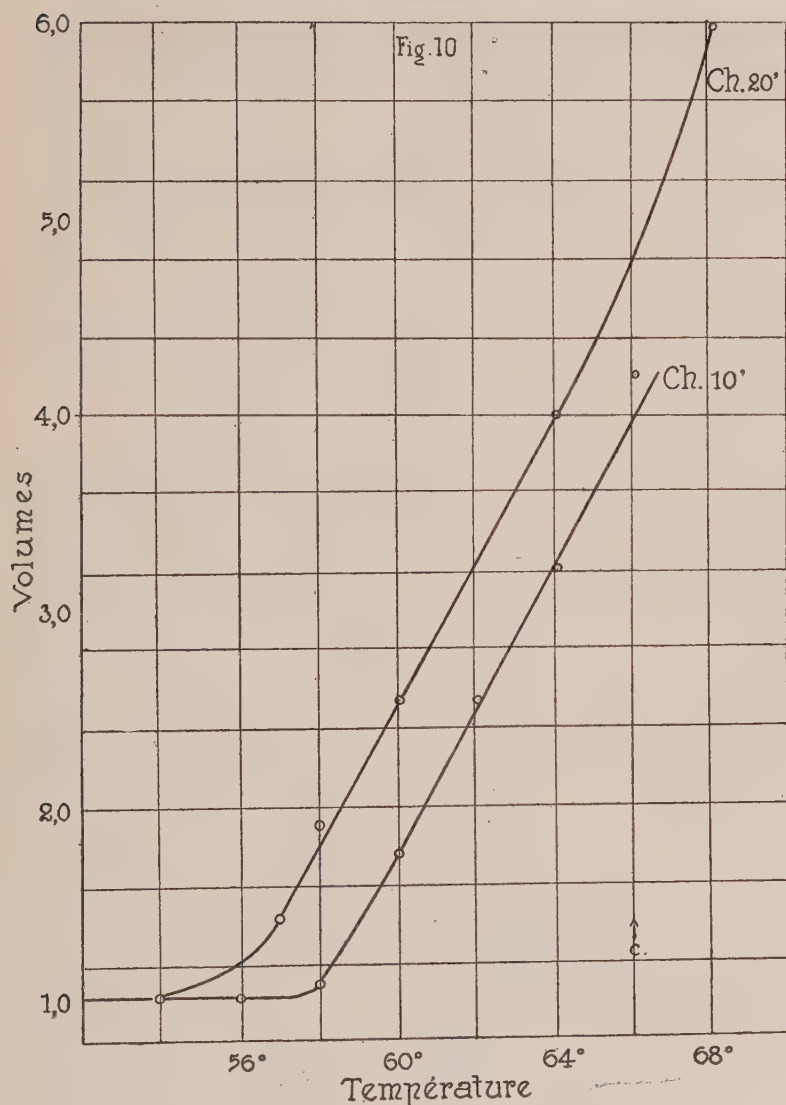


FIG. 10. — Accroissement du volume des molécules en fonction de la température, volumes calculés d'après la formule de Lord Rayleigh. Les ordonnées représentent des chiffres proportionnels au volume; chauffage de dix et vingt minutes.

Les figures 6, 7, 8 expriment l'accroissement du facteur de dépolarisation dans différentes expériences. La figure 6 pour différents temps de chauffage, les autres pour un chauffage

constant de dix minutes. On voit quelles grandes valeurs ρ peut atteindre dans le sérum dilué de moitié : 0,81. Ce qui indique

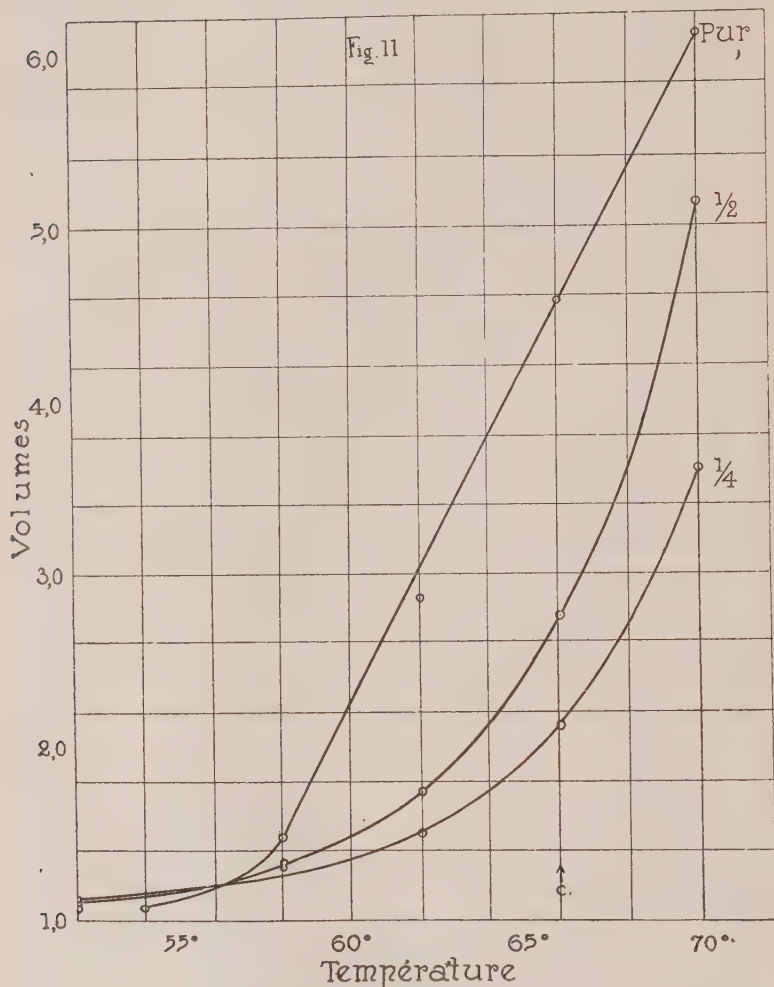


FIG. 11. — Volumes des molécules en fonction de la température.
Sérum pur et dilué à 1/2 et au 1/4.

que 20 p. 100 seulement de la lumière diffusée est polarisée : les propriétés optiques de la molécule sont complètement bouleversées. La figure 9 montre que les accroissements paraissent suivre la loi logarithmique exprimée par une équation de la forme : $\rho = e^{KT}$, T étant la température.

Les tableaux II et III représentent les protocoles d'expériences faites à temps de chauffage constant sur du sérum pur et dilué à 1/2 et 1/4 avec de la solution de NaCl à 0,90 p. 100. L'avant-

TABLEAU II. — **Expérience 13. Sérum normal pur de cheval.**
Chauffage constant : dix minutes.

TEMPÉRATURE	Log $\frac{I_0}{I}$						ACCROISSEMENT du volume d'une molécule	FACTEUR de dépolariation ρ
	Lumière normale		Lumière polarisée verticalement		Lumière dépolarisée			
	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.		
Non chauffé.	2,10	2,67	2,26	2,87	2,20	4,58		0,0195
54°	2,12	2,69	2,26	2,87	2,20	4,58		0,0195
58°	1,97	2,50	2,14	2,72	2,15	4,52	1,24	0,0160
62°	1,53	1,94	1,69	2,11	1,43	3,61	2,37	0,0339
66° C	1,19	1,51	1,42	1,80	1,43	2,45	3,90	0,2210
70° C	1,05	1,33	1,36	1,73	1,53	1,97	4,79	0,5760
Même sérum dilué 1/2 :								
Non chauffé.	2,14	2,72	2,30	2,92	2,27	4,67		0,0178
54°	2,17	2,76	2,32	2,94	2,20	4,59		0,0224
58°	2,07	2,63	2,22	2,82	2,10	4,46	1,11	0,0230
62°	1,85	2,35	2,00	2,54	1,85	4,13	1,53	0,0250
66°	1,40	1,78	1,57	2,00	2,55	3,24	2,95	0,076
70°	1,06	1,35	1,30	1,65	1,84	2,32	4,85	0,2140
Même sérum dilué 1/4 :								
Non chauffé.	2,24	2,84	2,38	3,02	2,30	4,70		0,0209
54°	2,13	2,79	2,22	2,82	2,10	4,45		0,0235
58°	2,17	2,76	2,33	2,96	2,30	4,70	1,09	0,0182
62°	2,00	2,54	2,14	2,72	2,00	4,33	1,41	0,0216
66°	1,66	2,11	1,80	2,38	3,05	3,88	2,31	0,0317
70°	1,30	1,65	1,47	1,87	2,40	3,05	3,94	0,0661

dernière colonne exprime l'accroissement du volume des molécules calculée d'après la formule de Rayleigh. Les chiffres sont obtenus en soustrayant les lectures corrigées (lumière normale) de la lecture initiale trouvée dans le sérum normal non chauffé, et en divisant la différence par 2, ce qui permet de trouver directement dans les tables de logarithmes la valeur de \sqrt{I} . Les résultats seront discutés à la fin de ce mémoire.

Le tableau IV donne de même les chiffres obtenus avec du sérum dilué porté à de plus hautes températures. La lettre C

après la température indique que la solution était coagulée.

Les figures 10, 11, 12 et 13 représentent les augmentations du volume des molécules en fonction de la température. Dans la

TABLEAU III. — **Expérience 14. Sérum normal de cheval (n° 2) pur et dilué, chauffé dix minutes.**

TEMPÉRATURE	Log $\frac{I_0}{I}$						ACCHUISSEMENT du volume d'une molécule	FACTEUR de dépolariation ρ
	Lumière normale		Lumière polarisée verticalement		Lumière dépolarisée			
	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.		
Non chauffé.	2,42	3,07	2,56	3,25	2,45	4,90		0,0204
54°	2,38	3,02	2,54	3,22	2,45	4,90	1,06	0,0209
58°	2,16	2,74	2,30	2,92	2,34	4,76	1,46	0,0145
62°	1,70	2,16	1,86	2,36	3,05	3,88	2,85	0,0302
66° C	1,38	1,75	1,58	2,01	2,31	2,93	4,57	0,1180
70° C	1,18	1,50	1,45	1,84	1,70	2,16	6,10	0,4790
<i>Même sérum dilué 1/2 :</i>								
Non chauffé.	2,26	2,87	2,43	3,08	2,35	4,77		0,0205
54°	2,37	3,01	2,47	3,14	2,30	4,71		0,0270
58°	2,18	2,77	2,34	2,97	2,20	4,59	1,32	0,0240
62°	2,00	2,54	2,18	2,77	2,08	4,43	1,72	0,0210
66°	1,68	2,13	1,83	2,32	1,62	3,85	2,75	0,0296
70°	1,25	1,59	1,44	1,83	2,15	2,73	5,13	0,1260
<i>Même sérum dilué 1/4 :</i>								
Non chauffé.	2,42	3,07	2,58	3,28	2,40	4,84		0,0276
54°	2,40	3,05	2,56	3,25	2,40	4,84	1,04	0,0258
58°	2,24	2,84	2,41	3,06	2,25	4,65	1,30	0,0258
62°	2,15	2,73	2,34	2,98	2,25	4,65	1,48	0,0214
66°	1,91	2,42	2,07	2,63	2,00	4,33	2,11	0,0200
70°	1,54	1,96	1,70	2,16	1,42	3,06	3,59	0,0364

figure 10, les temps de chauffage sont de vingt et dix minutes (sérum pur). On voit se reproduire le phénomène déjà signalé d'augmentation plus rapide à partir de 64-65°. Il est rare que le fait s'observe pour des chauffages de dix minutes, comme on peut s'en rendre compte par l'examen des figures suivantes. Cette incurvation est due probablement à un début de désintégration de la molécule. Elle est d'autant plus marquée que le chauffage est plus prolongé.

La figure 14, extraite de notre précédent mémoire (1), est reproduite pour la clarté de la discussion qui va suivre. Elle représente les accroissements de volume des molécules en fonction du temps de chauffage, chaque courbe correspondant à une température déterminée. On remarque, pour les tempé-

TABLEAU IV. — **Expérience 12. Sérum normal dilué 1/2 et 1/4**
(hautes températures).

TEMPÉRATURE	Log $\frac{I_0}{I}$						ACCROISSEMENT du volume d'une molécule V	FACTEUR de dépolariation ρ
	Lumière normale		Lumière polarisée verticalement		Lumière dépolarisée			
	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.	Lect.	Corr.		
Non chauffé . . .	2,44	2,68	2,27	2,88	2,45	4,52		0,023
72°	1,10	1,40	1,31	1,66	1,84	2,34	4,36	0,210
74°	1,02	1,29	1,28	1,62	1,60	2,03	5,00	0,390
76° C	1,02	1,29	1,36	1,73	1,43	1,82	5,00	0,810
<i>Même sérum dilué 1/4.</i>								
Non chauffé . . .	2,13	2,70	2,29	2,91	2,10	4,46		0,023
72°	1,34	1,70	1,50	1,90	2,47	3,41	3,16	0,057
74°	1,12	1,42	1,31	1,66	1,97	2,50	4,36	0,145
76°	0,90	1,14	1,15	1,46	1,47	1,87	5,73	0,390
Trois heures de chauffage à 90° C.	1,07	1,38	1,43	1,82	1,51	1,92	4,56	0,792

ratures inférieures à 60°, la tendance à prendre une valeur constante : pour deux heures de chauffage à 55°, 57°, 58°, la valeur est sensiblement la même que pour une heure. Pour des chauffages au-dessus de 60°, cette tendance disparaît. Les deux courbes non numérotées à gauche, dans le haut de la figure, correspondent à 64° et 66°. L'explication de ce phénomène sera donnée dans les derniers paragraphes de ce mémoire.

DISCUSSION ET INTERPRÉTATION.

Jusqu'ici, nous avons accepté l'opinion courante que les micelles ou molécules du sérum s'agrégeaient les unes aux

1) Ces *Annales*, 44, 1930 p. 109.

autres quand la température dépassait 56°. Cette hypothèse ne paraissant pas d'accord avec les nouveaux faits expérimentaux que nous venons d'exposer, il n'est pas sans intérêt d'examiner à nouveau le processus de la coagulation du sérum à la lumière

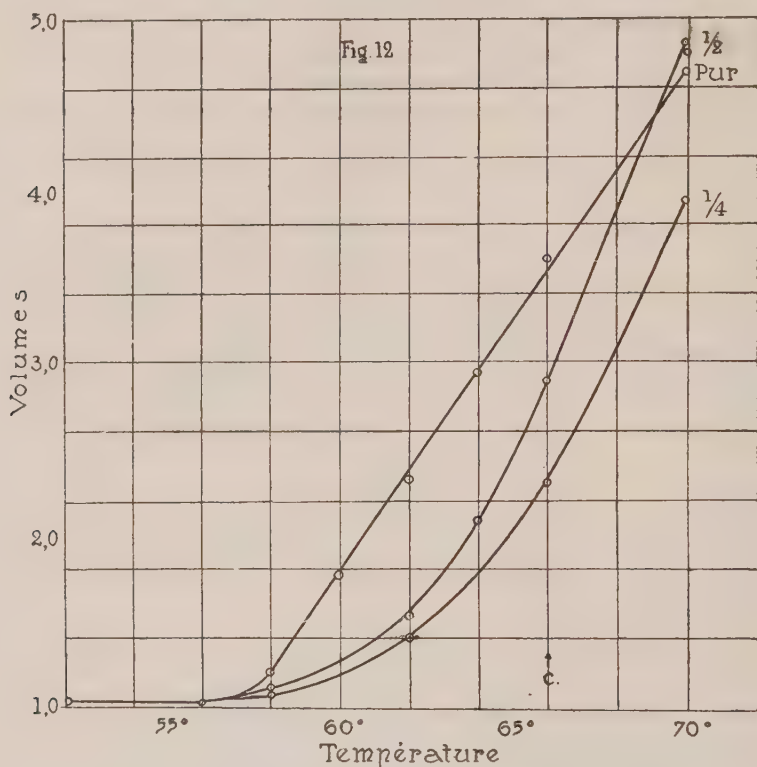


FIG. 12. — Volumes des molécules en fonction de la température.
Sérum pur et dilué à 1/2 et au 1/4.

des observations réunies dans nos travaux précédents et particulièrement dans le présent mémoire.

La différence fondamentale entre le gel et le sol consiste dans le fait que les substances en solution, par suite de modifications quelconques, ont augmenté leurs dimensions au détriment du solvant, à tel point qu'elles occupent tout le volume de la solution. En d'autres termes, en désignant par φ le volume occupé par les protéines, exprimé en pour cent du volume total, et dont la valeur moyenne pour du sérum de lapin est comprise en 10,7

et 11,2 (1) et atteint 12 pour le sérum de cheval, nous avons $\varphi = 100$ pour le sérum coagulé. La différence entre φ et le volume réel des protéines sèches représente l'hydratation normale des protéines (2). Un volume déterminé de sérum normal contient

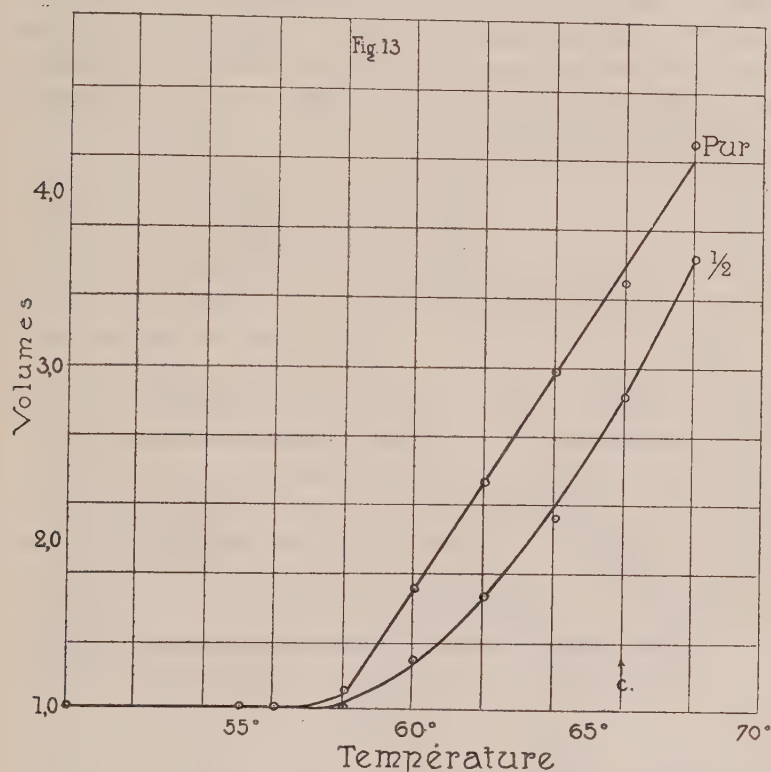


FIG. 13. — Volumes des molécules en fonction de la température.
Sérum pur et dilué à 1/2.

donc environ 11 p. 100 de « molécules de sérum » (nous employons ce terme global pour exprimer l'ensemble des substances protéiques et autres qui constituent le sérum, et qui sont indiscutablement liées les unes aux autres par des valences chimiques suivant la définition de Langmuir). Il suffit par conséquent que le volume de chaque molécule augmente de 9 fois,

(1) LECOMTE DU NOÛY. *Ces Annales*, 42, 1928, p. 742.

(2) KUNITZ, M. *Jour. Gen. Physiol.*, 9, 1926 p. 745 et L. DU NOÛY, *loc. cit.*

au maximum, pour que la masse du sérum soit prise en solide coagulum, que toute l'eau soit fixée sur les molécules, et qu'il n'y ait plus de trace de solvant liquide. Or, cette augmentation de volume ne correspond qu'à une augmentation des dimensions linéaires d'un peu plus de 2 fois (exactement $\sqrt[3]{9} = 2,08$). Le « diamètre moyen » de la molécule ne serait donc que doublé, c'est-à-dire, si nous nous basons sur nos anciennes déterminations (1), qu'il serait de l'ordre de 80×10^{-8} centimètres ou

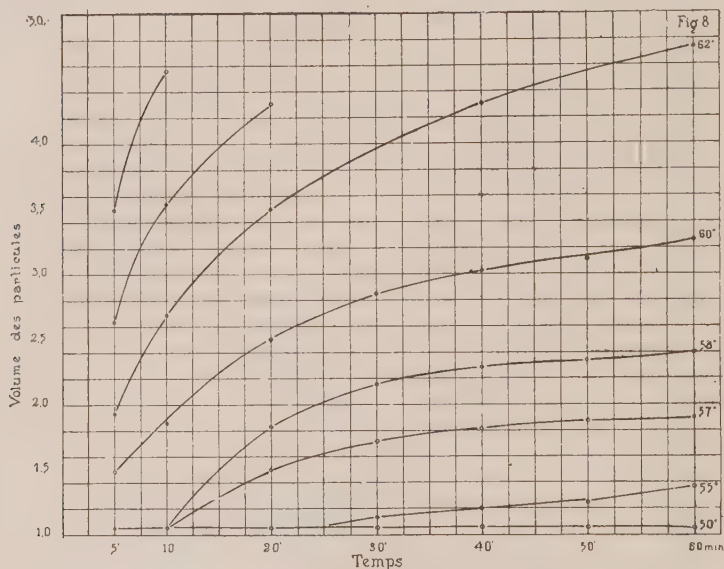


FIG. 14.

8 $m\mu$. Il serait donc encore 50 fois plus petit que la plus courte longueur d'onde de lumière visible.

Mais ici, une question se pose : est-il possible d'admettre un tel degré d'hydratation pour des protéines, c'est-à-dire de l'ordre de 900 p. 100 ? Nos mesures de viscosité (2) nous ont conduit pour des sérums visqueux, mais non coagulés, à des valeurs de l'ordre de 300 p. 100, ce qui suffirait à permettre une extrapolation satisfaisante. Mais tout récemment, M. Marinesco (3) est arrivé, par l'étude de la polarisation diélectrique, à des valeurs

(1) L. DU NOÛY. *J. Exp. Med.*, **39**, 1924, p. 717; *C. R.*, **178**, 1924, p. 1904.

(2) L. DU NOÛY. *Ces Annales*, **42**, 1928, p. 742.

(3) MARINESCO (N.). *C. R.*, **189**, 1929, p. 1274 et **187**, 1929, p. 718.

de 1.100 à 1.300 p. 100 pour l'ovalbumine, de 1.500 p. 100 pour l'hémoglobine et de 3.600 p. 100 pour la méthémoglobine. Le chiffre de 900 p. 100 n'a donc rien que de très normal, pour du sérum coagulé, c'est-à-dire évidemment très hydraté.

D'autre part, l'application de la formule de Rayleigh (1) nous a conduit à admettre des accroissements de volume des particules de l'ordre de 5 à 6 fois; mais ne pouvant faire pénétrer un coagulum rigide dans nos cuves de photomètre, nous avons été forcé de renoncer à étudier les sérums plus complètement coagulés. Or, la courbe qui exprime l'accroissement de la quantité de lumière diffusée est continue depuis la limpidité et la fluidité normales jusqu'à la coagulation absolue (fig. 9). Aucun changement d'allure ne se produit au moment de la gélation : le phénomène suit son cours identique, malgré le changement macroscopique.

Non seulement les courbes qui représentent l'accroissement du volume des molécules ne montrent aucun changement d'allure, comme on peut s'en rendre compte (fig. 10, 11, 12 et 13) quand la solution s'immobilise en passant d'une haute viscosité au stade de la coagulation, mais aussi quand le gel devient de plus en plus rigide, par suite de chauffage prolongé. Entre deux coagulums obtenus par chauffage de dix minutes à 66° et à 68° par exemple, la différence de la lumière diffusée, c'est-à-dire l'accroissement du volume des particules, est sensiblement la même qu'entre trois sérums liquides chauffés pendant dix minutes à 62°, 64°, 66°. En d'autres termes, l'accroissement de volume, entre certaines limites naturellement, reste à peu près proportionnel à la température, que la masse soit coagulée ou non. Ce phénomène serait très difficilement explicable si l'on admettait que l'augmentation du volume des micelles est dû à l'accolement de micelles entre elles, tandis qu'il devient extrêmement clair si l'on considère que cette augmentation n'est due qu'à la fixation progressive de molécules d'eau (2). De plus, d'après le calcul simple exposé plus

(1) L. DU NOÛY. *Ces Annales*, 44, 1930, p. 109.

(2) KRISHNAMURTI a fait la même observation en étudiant les solution d'agar et en tire la conclusion suivante : « Si l'accroissement de la lumière difluee était due à l'agrégation des micelles, il devrait y avoir une augmentation brusque dans la lumière diffusée juste au moment où la solution devient un gel, et le nombre de Tyndall devrait ensuite rester constant ». *Loc. cit.*

haut, les dimensions linéaires des micelles ne peuvent que doubler, au maximum : ce qui revient à dire que les groupes les plus gros ne pourraient être composés que de 8 micelles ou molécules élémentaires. Nous sommes loin des agglomérats de centaines et de milliers de molécules prévus par certaines théories colloïdales.

Assurément, il se produit de tels agglomérats; mais c'est là l'exception et non la règle, et leur nombre reste toujours très petit par rapport au nombre total de molécules. Les particules que l'on voit à l'ultra-microscope — et que l'on observe dans des solutions de sucre, sont, nous l'avons montré (1), très rares dans le sérum normal propre. Leur nombre augmente certainement par suite du chauffage, mais ne représente jamais qu'une très faible proportion de molécules, de l'ordre de $1/100.000$ du nombre total. Il est facile de s'en rendre compte par des numérations soignées. Ces gros granules se forment probablement surtout autour de noyaux de dimensions déjà très supérieures aux dimensions moléculaires et qui existent toujours dans le sérum, quelques précautions que l'on prenne.

Parmi les expériences rapportées dans le présent mémoire, il en est quelques-unes qui semblent pouvoir nous renseigner sur la question de l'agrégation : ce sont celles effectuées avec le sérum dilué. Admettons, en effet, que le sérum soit essentiellement composé de micelles en suspension colloïdale et que l'accroissement du volume de ces micelles soit dû à un accollement consécutif à l'action de la chaleur. Dans ce cas, le nombre des particules qui s'accoleront sera évidemment proportionnel au nombre de chocs par unité de temps. Dans le sérum pur, le nombre de particules dans l'unité de volume étant n , le nombre de chocs est proportionnel à n^2 . Si nous répétons les expériences en employant du sérum dilué de moitié avec de la solution physiologique à 0,9 p. 100 de NaCl, et que nous soumettions cette solution au chauffage, les conditions seront changées. Il y a moitié moins de particules par unité de volume, soit $\frac{n}{2}$, et par conséquent le nombre de chocs sera pro-

(1) L. DU NOÛY. *Equilibres superficiels des solutions colloïdales*. Masson, Paris, 1929, p. 196 et suivantes.

portionnel à $\left(\frac{n}{2}\right)^2$, c'est-à-dire 4 fois moins grand, en supposant toutes choses égales d'ailleurs. Il faut donc logiquement s'attendre à ce que la vitesse d'accroissement des particules soit 4 fois moins grande que pour le sérum pur. Quand le sérum est dilué au 1/4 (25 p. 100 de sérum et 75 p. 100 de solution physiologique) le phénomène devrait être encore plus net : la vitesse d'accroissement devrait être 16 fois moins grande, à condition encore de négliger l'appauvrissement progressif de la suspension par suite de la fixation des particules. Or, ce n'est pas du tout ce que nous observons expérimentalement : les figures 11 à 13 montrent bien que, si le phénomène est en effet plus lent au début, les courbes tendent ensuite à se rapprocher et même à rejoindre celles qui expriment la vitesse d'accroissement des particules du sérum pur. Au lieu d'être 4 fois ou 16 fois plus faible, la vitesse est d'abord moindre — mais jamais dans la proportion de 1 à 4 — puis égale et enfin plus grande, ce qui indique que l'accroissement ne peut être dû à l'accolement de particules de même nature, mais à un phénomène tout différent. Or, si la température — qui aboutit à la coagulation — ne détermine pas une agrégation micellaire, il n'y a guère de raison pour admettre qu'il existait de tels agrégats amicroniques dans le sérum normal. Le phénomène d'augmentation de volume est donc, suivant nos expériences, essentiellement un phénomène d'hydratation moléculaire dans une solution moléculairement dispersée. Nous sommes, croyons-nous, bien fondés à n'employer que le mot « molécule » et à éliminer les termes tels que particule et micelle, en parlant du sérum en général. Le sérum n'est donc pas une solution colloïdale, au sens d'agrégats moléculaires, mais une solution vraie de très grosses molécules et l'aspect opalin « colloïdal » classique du sérum chauffé serait dû à une diffusion moléculaire de la lumière.

Dans un sérum dilué à 50 p. 100, la coagulation complète ne peut se produire à la même température, pour le même temps de chauffage, car la distance moyenne entre les molécules étant doublée, puisque leur nombre est réduit de moitié, elles ne peuvent aussi rapidement atteindre les dimensions nécessaires pour occuper tout l'espace de la solution. Leur volume

peut augmenter cependant bien au delà du volume atteint par les molécules dans le sérum pur chauffé, puisqu'en chauffant dix minutes à 76° la coagulation est obtenue. Dans ce cas, l'hydratation atteint une valeur évidemment double, soit 1.800 p. 100. Mais ce chiffre semble très près de la limite extrême, car lorsqu'on chauffe une solution de sérum à 25 p. 100, soit 2 fois moins concentrée, il faut chauffer à 90° pendant trois heures pour obtenir la coagulation, et il se produit un phénomène nouveau : le coagulum exsude spontanément l'eau en excès et la concentration du sérum dans le coagulum est ramenée à peu près à 50 p. 100. Dans ce cas l'hydratation atteint 2.000 p. 100.

Lorsque la molécule est distendue à l'extrême, des ruptures se produisent dans les chaînes, l'intégrité de l'édifice n'est plus maintenue et il en résulte des désagréments et des précipitations. On comprend maintenant la signification de l'expression de « déplacement de la température de coagulation » quand le sérum est dilué.

Non seulement l'élévation de température ne détermine pas d'agrément, mais tout se passe comme si, au contraire, elle aboutissait, dans le sérum dilué, à un fractionnement de la molécule initiale. Ceci ressort clairement des expériences 12, 13 et 14 et du raisonnement suivant.

Nous avons vu (tableau II, fig. 11 à 13) que les courbes représentant l'accroissement du volume des molécules dans le sérum dilué étaient déplacées vers la droite (hautes températures). Nous venons d'expliquer comment le seul fait de l'augmentation de la distance moyenne entre les molécules permet de comprendre le déplacement de la température de coagulation. Mais les courbes du sérum dilué ne sont pas parallèles à celles du sérum pur sur tout leur parcours; nous pouvons essayer, en nous basant sur notre hypothèse et sur l'application de la formule de Rayleigh, de nous rendre compte des limites entre lesquelles l'hypothèse précitée est valable pour le sérum dilué et de comprendre la signification des écarts.

Pour cela, revenons à la formule de Rayleigh (1).

(1) Voir H. FREUNDLICH. *Colloid and Capillary Chemistry*. Dutton. New-York, 1926, p. 380 et suiv. (Traduction anglaise.)

Il est très probable que, dans le cas de chauffage suffisant pour déter-

Pour la lumière diffusée à angle droit, elle s'écrit :

$$I = \frac{9 \nu \pi V^2 A^2}{\lambda^4 x^2} \left(\frac{n_1^2 - n^2}{n^2 + 2n^2} \right)^2$$

ou ν = le nombre de particules par unité de volume, V^2 = le carré moyen du volume des particules, n_1 l'indice de réfraction des particules et n l'indice de réfraction du solvant. Les autres

minier une apparence d'hétérogénéité dans le sérum (trouble laiteux) le facteur entre parenthèses représentant l'effet dû aux variations de l'indice de réfraction, que nous avons négligé, entre en jeu. Nous n'en avons pas tenu compte pour deux raisons principales. La première est que des mesures d'indice du sérum chauffé jusqu'à 70° n'ont pas montré de grosses différences, comme on peut s'en rendre compte par les chiffres suivants :

Sérum pur, normal de cheval, expérience 45 (19 février).

Non chauffé, centrifugé le 15 février.	$n_D = 1,34910$	(T = 22°)
Non chauffé, centrifugé le 18 février.	1,34958	»
Chauffé :		
Une heure à 57°.	1,34917	»
Une heure à 59°.	1,34917	»
Vingt minutes à 61°.	1,34936	»
Cinq minutes à 65°.	1,34910	»
Deux minutes à 70°.	1,34954	»

Les variations ne portent que sur la 4^e décimale.

Le même sérum dilué donne, dans les mêmes conditions, des valeurs sensiblement constantes (à 25 p. 100, $n_D = 1,33789$).

La deuxième raison est que, pour tenir compte de ce facteur, il faudrait déterminer séparément les valeurs de n_1 (indice de réfraction des particules), ce qui représente des difficultés considérables et n'irait pas sans introduire de graves causes d'erreur.

On peut d'ailleurs se faire une idée de l'ordre de grandeur de ce facteur en effectuant le calcul pour des chiffres arbitraires. On peut admettre, hypothétiquement, que l'hydratation diminue l'indice n_1 des molécules.

Le facteur :

$$F = \left(\frac{n_1^2 - n^2}{n_1^2 + 2n^2} \right)^2$$

diminuerait donc par suite du chauffage.

En prenant $n = 1,351$ pour l'eau salée à 17°, et une valeur arbitraire $n_1 = 1,370$ pour les particules de sérum normal, non chauffé, on obtient :

$$F = \left(\frac{n_1^2 - n^2}{n_1^2 + 2n^2} \right)^2 = 0,000.088.36.$$

Pour du sérum chauffé, si nous admettons une très forte diminution de l'indice n_1 , soit 1,360, on obtient :

$$F = 0,000.0199.70$$

On voit que pour des différences de 10 unités de la 3^e décimale de n_1 , la variation est de 75 p. 100 environ de la valeur de F.

D'autre part, il n'est pas absolument sûr que l'hydratation d'une molécule,

lettres représentent des quantités constantes dans des conditions expérimentales déterminées (1).

En éliminant les valeurs constantes, et en les remplaçant par une autre, C , elle peut, nous l'avons dit, se ramener à la forme :

$$I = CV^2.$$

C'est sous cette forme simplifiée que nous l'avons employée pour obtenir des chiffres proportionnels à V . Mais si nous passons au sérum dilué de moitié, nous devons, pour étudier les relations quantitatives avec le sérum pur, réintroduire le facteur v qui représente le nombre de particules présentes par unité de volume, nous aurons donc :

$$I' = C'vV^2.$$

C'est-à-dire que la lumière diffusée est proportionnelle au nombre de molécules diffusantes. Comme $V = \kappa \sqrt{I}$, c'est la racine carrée du rapport des dilutions qui entre en jeu pour les volumes et dans le cas simple de dilutions à $1/2$ et à $1/4$ on arrive aux formules :

$$V_1 = \frac{V}{\sqrt{2}} \quad \text{et} \quad V_2 = \frac{V}{\sqrt{4}}.$$

En appelant V_1 et V_2 le volume des particules dans le sérum dilué à $1/2$ et à $1/4$, $\sqrt{2}$ et $\sqrt{4}$ représentant le rôle joué par le nombre de molécules par unité de volume dans les deux cas.

Donc, théoriquement, et en admettant qu'aucun autre facteur n'entre en jeu, les courbes représentant les valeurs de V , V_1 et V_2 obtenues pour le sérum pur et dilué à moitié et au quart devraient, d'après notre hypothèse, pouvoir se calculer en divisant les valeurs obtenues pour le sérum pur par 1,41 et 2.

dans les conditions que nous avons étudiées, se traduise par une diminution de l'indice. Nous ne savons donc pas dans quel sens la correction devrait jouer. Tout ce que nous savons est que l'indice du sérum total pur tend à augmenter légèrement par suite du chauffage (mesures effectuées à température constante) et que l'augmentation ne porte que sur la 4^e décimale. Et encore l'augmentation est elle, dans les conditions de nos expériences, de l'ordre de grandeur des fluctuations observées quand le sérum est centrifugé à des moments différents, ou quand il est plus ancien.

(1) L. du Nouy. Ces *Annales*, 44, 1930, p. 121.

Si, par contre, l'accroissement se produit par aggrégation micellaire, les valeurs V du sérum pur devraient être divisées par 4 et par 16 pour correspondre à celles des sérums dilués. Les résultats de trois séries d'expériences sont rassemblés dans le tableau ci-dessous.

TEMPÉRATURE en degrés chauffage 10 minutes	SÉRUM PUR V observé	SÉRUM DILUÉ 1/2 V ₁ observé	VALEURS calculées d'après V ₁ = $\frac{V}{\sqrt{2}}$	VALEURS calculées d'après V ₁ = $\frac{V}{4}$
<i>Expérience 1 :</i>				
58.	1,32	1,00	0,95	0,33
60.	1,75	1,28	1,24	0,44
62.	2,30	1,65	1,63	0,57
64.	2,95	2,10	2,10	0,74
66.	3,55	2,80	2,52	0,89
68.	4,28	3,60	3,04	1,07
<i>Expérience 2 (26 mars) :</i>				
58.	1,20	1,03	0,85	0,30
60.	1,45	1,15	1,03	0,36
62.	2,25	1,60	1,60	0,56
64.	3,20	2,50	2,26	0,80
66.	4,17	2,93	2,95	1,04
68.	5,20	3,60	3,60	1,28
<i>Expérience 3 (31 mars) :</i>				
58.	1,20	1,10	0,85	0,30
60.	1,78	1,26	1,26	0,44
62.	2,32	1,53	1,64	0,58
64.	2,94	2,09	2,08	0,73
66.	3,60	2,89	2,56	0,90
70.	4,68	4,80	3,31	1,17

On se rend compte immédiatement que les chiffres de la cinquième colonne ne peuvent en aucune façon exprimer le phénomène, tandis que ceux de la quatrième le suivent d'assez près jusqu'à une certaine température. En général, à partir de 66°, un écart se manifeste qui peut devenir très grand (expérience 1 et 3). L'apparence même des courbes obtenues avec le sérum dilué indique bien qu'il ne peut y avoir de concordance absolue, puisque celles qui correspondent au sérum pur sont presque rectilignes et que les autres présentent une forte incurvation. Quand le sérum est dilué au quart, l'accord

est parfois aussi bon que dans les expériences ci-dessus, mais pas d'une façon générale ; néanmoins, et c'est le seul point sur lequel nous insistons, les chiffres sont bien plus proches des valeurs observées que ceux obtenus en divisant les valeurs obtenues pour le sérum pur par 16. Le tableau ci-dessous donne les valeurs observées et calculées pour cette dilution.

TEMPÉRATURE en degrés	SÉRUM PUR V observé	SÉRUM DILUÉ 1/4 V ₂ observé	VALEURS calculées d'après $V_2 = \frac{V}{\sqrt{4}}$	VALEURS calculées d'après $V_2 = \frac{V}{16}$
58.	1,20	1,04	0,60	0,075
60.	1,45	1,10	0,72	0,091
62.	2,25	1,33	1,12	0,140
64.	3,20	1,62	1,60	0,200
66.	4,17	1,85	2,00	0,260
68.	5,20	2,65	2,55	0,320

Il est clair que d'autres facteurs entrent en jeu quand le sérum est dilué et chauffé. Mais, étant donné que toutes les courbes du sérum dilué tendent à partir de 66° à se rapprocher et même à couper la courbe du sérum pur, c'est-à-dire que la quantité de lumière diffusée croît plus vite dans le sérum dilué et dépasse parfois celle du sérum pur ; étant donné, d'autre part, que nous savons qu'il ne se produit pas d'agréga-tions, il ne reste plus qu'une variable qui puisse influencer la quantité de lumière diffusée, à savoir le nombre de particules diffusantes. Or, pour que ce nombre augmente, à concentration constante, il faut admettre qu'il se produit un fractionnement des molécules à partir d'une certaine température (vers 65°). Les structures protéiques ne sont pas indéfiniment extensibles, et, en élevant la température au delà d'une certaine limite, on détruit la molécule qui se scinde en ses éléments, plus vite que dans le sérum pur, car pour celui ci, à cette température, la gélation a déjà commencé et les molécules sont serrées les unes contre les autres, ce qui empêche l'effritement, la désagrégation de l'échafaudage originel.

La mesure du facteur de dépolarisation pour le sérum dilué permet de se rendre compte que le phénomène est en principe

le même que pour le sérum pur. L'anisotropie optique devient énorme : ρ atteint des valeurs de 0,80, qui indiquent que 20 p. 100 seulement de la lumière diffusée est polarisée. C'est presque de la réflexion pure. Les courbes sont toujours très régulières et à partir de 64° la valeur de ρ augmente avec une très grande vitesse. Nous n'avons pas observé de transition entre le liquide et le gel. Quand le sérum dilué de moitié est porté à 70° (dix minutes) et qu'il coagule, la valeur de ρ , nous l'avons vu, est plus grande que celle du sérum à 70°. Il est probable que la molécule est complètement disloquée.

Nous pouvons maintenant essayer de nous faire une idée du mode de fixation des molécules d'eau aux molécules de sérum, de façon à expliquer les phénomènes précédents.

Pour cela, nous disposons de quatre faits expérimentaux principaux en ce qui concerne le sérum normal, à savoir :

- 1° Le volume des molécules n'augmente que lorsque la température atteint environ 55°;
- 2° Le volume des molécules augmente ensuite de façon constante et sensiblement proportionnelle à la température;
- 3° Le facteur de dépolarisation augmente de façon continue et atteint de hautes valeurs;
- 4° Dans le sérum dilué l'accroissement de volume des molécules indique qu'il n'y a pas d'agrégation.

Il nous a été impossible de trouver dans la littérature une précision quelconque au sujet du mécanisme même de l'hydratation. Les termes rencontrés généralement sont « hydratation », « fixation de molécules d'eau », « adsorption d'eau ». Marinesco parle de l'épaisseur de la périssphère d'eau (1). Nous n'avons pas encore réussi à dégager l'idée des différents auteurs en ce qui concerne la place où les molécules d'eau viennent se fixer. C'est un détail qui est généralement passé sous silence. A notre connaissance, il n'a pas fait l'objet de travaux spéciaux, mais nous n'avons pas la prétention d'avoir lu tout ce qui a été publié sur ce sujet, dans toutes les langues.

Il semble donc qu'à l'heure actuelle la tendance générale

(1) « Dans le cas de la méthémoglobine, où l'on connaît le poids moléculaire moyen, on trouve pour l'épaisseur de la périssphère d'eau (comprimée par attraction diélectrique), 70.10⁻⁸ centimètres, tandis que le noyau de la micelle a un rayon égal à 27.10⁻⁸ centimètres. » Marinesco, *C. R.*, 187, p. 720 (1928).

soit de considérer que les molécules d'eau s'adsorbent à la périphérie de la molécule protéique. Voyons quelles sont les conséquences de cette manière de voir. Au fur et à mesure du chauffage, les molécules s'adsorbent en plus grand nombre, et finissent par entourer la grosse molécule protéique d'une couche d'eau dont l'épaisseur va en augmentant, à tel point qu'elle atteint, d'après nos expériences et nos calculs, une valeur égale au quart du « diamètre moyen » de la molécule de sérum, soit environ 20 molécules d'eau (H_2O , monohydrol). Quand cette épaisseur est atteinte, le volume total de la molécule, y compris son enveloppe d'eau, est multiplié par 9 et il y a contact intime entre toutes les molécules : le sérum est coagulé. Or, ce ne sont pas les molécules qui seraient en contact, mais leur eau d'adsorption. Quelle serait alors la différence entre le sérum à l'état liquide, dans lequel les molécules se trouvent à la même distance les unes des autres, et le gel, où rien n'est changé si ce n'est que l'eau est « adsorbée »? Quelle est la signification de cette force mystérieuse d'adsorption qui se ferait sentir à travers une épaisseur d'une quarantaine de couches moléculaires d'eau et qui fixerait de manière rigide les dernières couches d'eau sur des couches d'eau sous-jacentes? Le gel serait à proprement parler constitué par de l'eau immobilisée par des forces, et non par une structure. Il serait alors difficile de comprendre pourquoi l'anisotropie optique de la molécule, révélée par les mesures du facteur de dépolarisation, augmenterait constamment, et d'autant plus vite que la coagulation est plus avancée. Il serait même difficile de comprendre pourquoi la quantité de lumière diffusée (proportionnelle au carré du volume des particules) augmenterait en fonction de la température, à moins d'admettre que, optiquement, les propriétés de l'eau fixée diffèrent profondément de celles de l'eau libre. On comprendrait mal d'ailleurs la nature des différences entre l'eau entourant la protéine qui ne serait plus liquide et l'eau liquide dans laquelle elle flotterait : ce qui est admissible pour une couche adsorbée monomoléculaire, ou à la rigueur, bimoléculaire, ne l'est plus si la couche a 20 Ångströms d'épaisseur. Pourquoi, enfin, une élévation de température de 1° déterminerait-elle la fixation d'une nouvelle couche d'eau sur les autres, et d'épaisseur décroissante et, dernière dif-

ficulté, pourquoi cette absorption ne se produirait-elle qu'à partir d'une certaine température et pas au-dessous?

On se rend compte que cette façon de voir est difficilement admissible, elle l'est aussi peu que l'hypothèse de la coagulation par agrégation de molécules entre elles qui, nous l'avons vu, est en contradiction absolue avec les observations expérimentales.

Mais on peut faire une autre hypothèse, qui bien qu'en apparence hétérodoxe est en réalité tout à fait classique et possède l'avantage d'expliquer tous les faits expérimentaux précédents. Cette hypothèse consiste simplement à admettre que l'adsorption de l'eau se produit à l'intérieur de la molécule protéique, entre les chaînes ramifiées qui constituent son échafaudage complexe.

Mais pour que les petites molécules d'eau puissent pénétrer à l'intérieur de cet échafaudage, protégé par les forces s'exerçant entre ses groupes externes, il faut qu'elles disposent d'une certaine énergie balistique : là où une pierre lancée par une main humaine ne pénétrera pas, une balle de fusil entrera aisément. Cette énergie balistique lui est fournie par la température, et nous comprenons aussitôt un fait jusqu'ici mystérieux, à savoir pourquoi au-dessous de 54° le sérum est pratiquement inaltérable, quelle que soit, entre certaines limites, la durée du chauffage. C'est qu'au-dessous de cette température l'énergie cinétique des molécules d'eau est insuffisante pour leur permettre de franchir la barrière qui leur est opposée par les forces périphériques de la molécule protéique et pour se fixer à l'intérieur. Mais aussitôt que cette énergie a dépassé un certain seuil dont la valeur est précisément déterminée par la grandeur des forces d'attraction entre les groupes périphériques — les molécules d'eau forcent l'entrée et s'introduisent entre les ramifications atomiques. Si la température n'augmente pas, l'énergie cinétique des molécules, qui lui est proportionnelle, reste constante ; les molécules ne peuvent pénétrer que jusqu'à une certaine profondeur, et, pour les basses températures et les températures moyennes (55° à 58°) un état d'équilibre, correspondant à une sorte de saturation, doit être atteint quand le chauffage est maintenu assez longtemps. En d'autres termes, l'accroissement du volume des particules ne doit pas être proportionnel au

temps de chauffage, mais doit tendre vers une valeur constante : les courbes exprimant le phénomène devraient présenter une convexité tournée vers l'axe des y (volumes) et prendre ensuite une allure asymptotique pour des chauffages prolongés : d'autre part, pour les hautes températures, à partir de 60° , la tendance de la courbe à atteindre un plateau doit diminuer pour disparaître aux plus hautes températures : c'est exactement ce que l'expérience nous révèle (fig. 14).

Si, par contre, à temps de chauffage égal, la température augmente, l'énergie cinétique des molécules d'eau s'accroît, elles pénètrent plus profondément à l'intérieur de la structure, et elles y pénètrent en plus grand nombre : le nombre devrait être en fonction directe de leur force de pénétration, et la courbe représentant l'accroissement du volume des molécules protéiques en fonction de la température devrait être sensiblement une droite. C'est également ce que l'expérience nous révèle (fig. 10 à 13). Comme le nombre de molécules d'eau qui frappent la molécule protéique augmente proportionnellement à la température, la vitesse d'accroissement du volume de cette dernière est également proportionnelle à la température, ce qui est une conséquence directe de l'observation précédente. Cette hypothèse permet donc d'expliquer la stabilité du sérum jusqu'à 55° environ, et son comportement ultérieur, jusqu'à la coagulation complète.

Cette hypothèse, à elle seule, ne suffirait peut-être pas à expliquer l'irréversibilité de ces phénomènes, comme nous l'a très justement fait remarquer M. le professeur Lapicque. En effet, la température étant un phénomène statistique, il existe, aux températures inférieures à 55° , des molécules d'eau douées d'une énergie cinétique suffisante pour leur permettre de pénétrer dans la molécule de sérum. Si les phénomènes étaient réversibles, on comprendrait qu'un équilibre puisse s'établir. Mais à partir de 55° ou aux environs de cette température, les molécules d'eau sont fixées irréversiblement. On peut répondre à cette objection : 1° Que les phénomènes que nous mesurons sont également statistiques ; 2° que le temps de chauffage joue un rôle également, et que quatre heures de chauffage à 50° déterminent une légère augmentation du pouvoir rotatoire, par exemple ; et 3° qu'il est possible, comme nous le suggérons d'ailleurs à la fin de ce mémoire, que le fait de porter les protéines à une température voisine de 55° détermine de légers changements structuraux, chimiques, tels que les molécules d'eau ayant pénétré à l'intérieur soient définitivement fixées, ce qui expliquerait le seuil de 55° et l'irréversibilité. Cette hypothèse serait d'accord avec le fait que les courbes exprimant la viscosité en fonction de la température montrent que le phénomène est réversible tant que le chauffage n'a pas été porté au delà de 55° .

Tout se passant, en somme, comme si la molécule de sérum s'hydratait par l'intérieur beaucoup plus que par l'extérieur et gonflait à la manière d'un cube de gélatine, toutes les transformations que nous avons signalées dans ses propriétés optiques deviennent compréhensibles : l'accroissement continu du pouvoir rotatoire et du facteur de dépolarisation en particulier. Nous avons montré, en effet (1), que la vitesse d'accroissement du pouvoir rotatoire en fonction de la température (quantité dont l'angle de rotation était augmenté par minute, pour des chauffages de l'ordre de cinq minutes) était proportionnelle à la température, ce qui s'explique très bien si l'on admet que sous l'influence du bombardement et de l'envahissement des molécules d'eau, les chaînes, les ramifications de la protéine s'écartent peu à peu, progressivement, modifiant par là même la symétrie qui existait préalablement. Cette modification très régulière se manifeste par l'accroissement continu du pouvoir rotatoire, proportionnellement à la température. La place relative des groupes chimiques varie dans l'espace, au fur et à mesure du gonflement, comme s'ils étaient fixés sur une spirale dont on accroîtrait, en même temps, la longueur et le diamètre sans modifier nécessairement la longueur de la chaîne ou des chaînes principales. Quelques spires d'un ressort à boudin en fil très élastique permettent de se faire une idée de ces déformations.

La continuité de ce phénomène de rotation du plan de polarisation et d'ailleurs le phénomène lui-même seraient également impossibles à expliquer si l'on admettait que la coagulation fût due à une aggrégation micellaire. Seule l'hypothèse de dispersion moléculaire dans le sérum, c'est-à-dire le concept de solution vraie, maintenue jusqu'à la coagulation, permet de rendre compte des faits observés.

L'augmentation rapide de l'anisotropie optique, révélée par l'accroissement considérable de la valeur du facteur de dépolarisation, s'explique ainsi simplement par le déplacement relatif, dans l'espace, des groupements atomiques, et l'envahissement des molécules d'eau.

Au point de vue biologique, on comprend bien que l'éloi-

(1) L. DU NOUY. *Ces Annales*, 43, 1929, p. 749.

gnement progressif des groupes puisse modifier totalement les propriétés chimiques du sérum. Et l'on doit en conclure que, très probablement, le pouvoir complémentaire dépend des groupes superficiels de la molécule, facilement déplacés et peut-être dissociés, par des chocs peu violents, tandis que la « sensibilisatrice », propriété spécifique de la molécule, n'est atteinte que dans le cas où les molécules d'eau peuvent pénétrer assez profondément pour altérer définitivement l'architecture moléculaire.

Les courbes exprimant les valeurs de ρ montrent bien que c'est entre 62° et 66° que les plus profondes modifications de symétrie doivent se produire.

La polarimétrie est une méthode plus sensible que celle exposée dans le présent mémoire et montre que, pour des chauffages de l'ordre de soixante minutes, le phénomène débute vers 50° (1). Cependant, en raison même de la sensibilité de cette méthode, il se pourrait que ces changements de symétrie à basse température fussent dus à des altérations locales atomiques et non pas à la pénétration des molécules d'eau; c'est-à-dire qu'ils révéleraient les phénomènes de déplacements périphériques n'ayant que peu d'influence sur le volume de la molécule.

Nous avons pensé qu'il devait être possible de mettre en évidence un changement de structure des molécules du sérum (augmentation d'un diamètre par rapport aux autres) par des mesures de biréfringence magnétique. Les expériences eussent apporté un argument en faveur du fait que l'accroissement du facteur de dépolarisation était dû à un changement de forme de la molécule. Dans ce but, nous avons eu recours à l'extrême obligeance de M. le professeur Cotton qui a bien voulu mettre

(1) L. du Noüy. Ces *Annales*, 43, 1929, p. 760.

Il existe peut-être une autre résultante du maintien prolongé de la température au-dessus de 50° et qui serait caractérisée par de faibles changements structuraux dans les groupes d'atomes tels, que ceux-ci deviendraient capables de fixer les molécules d'eau.

C'est intentionnellement que nous avons évité de parler de l'action des électrolytes. En effet, nous étudions un complexe relativement stable, le sérum, possédant des propriétés particulières et à peu près constantes à condition de ne le pas maltraiter. Ceci élimine toute une série d'expériences dont le résultat immédiat serait la destruction du sérum en tant que système en équilibre. Néanmoins, nous nous proposons d'essayer, par des méthodes physiques, de nous rendre compte du comportement et du rôle des électrolytes et ce travail fera l'objet d'un autre mémoire.

à notre disposition le grand électro-aimant de l'Académie des Sciences, à Bellevue, et a effectué lui-même les expériences. Nous avons soumis à un champ magnétique de l'ordre de 50 000 gauss (intensité du courant : 400 ampères) trois échantillons de sérum : normal, chauffé à 58° et à 64° pendant dix minutes. Aucune trace de biréfringence ne fut observée. Ceci semble démontrer que la symétrie géométrique de la molécule n'est pas modifiée de façon mesurable par le chauffage. L'accroissement considérable dans la valeur de ρ ne peut donc être dû uniquement à l'augmentation de volume, nous l'avons démontré précédemment, ni selon toute probabilité, à un changement de forme. Elle ne peut donc être déterminée que par une modification importante de l'anisotropie optique des molécules, conséquence forcée des déplacements relatifs des groupes d'atomes dus à l'expansion par hydratation.

Nous pouvons tirer une autre conclusion des pages précédentes et des expériences décrites dans le présent mémoire. Si nous nous reportons aux travaux de Mie (1), nous y voyons que la quantité de lumière dépolarisée atteint 10 p. 100 quand les particules sont de l'ordre de 130 $m \mu$. Or, nous avons observé des valeurs de ρ de l'ordre de 50 p. 100 et davantage, et néanmoins nos particules n'atteignent très probablement que des longueurs de l'ordre de 100×10^{-8} centimètres, soit 10 $m \mu$. Nous sommes encore plus de 10 fois au-dessous des valeurs données par Mie. Il ressort donc de nouveau, dans ce cas particulier, un argument en faveur du changement dans la symétrie structurale et dans l'anisotropie optique des molécules protéiques par suite de l'hydratation, car si l'accroissement se produisait uniquement par la périphérie il serait symétrique.

Nous sommes donc conduits à admettre que l'effet de l'élévation de la température se manifeste principalement par une pénétration, un bombardement de molécules d'eau à l'intérieur même de la molécule de sérum, dont les conséquences sont l'accroissement du volume de celle-ci par suite du dépliement des chaînes internes qui normalement doivent exister sous forme de spirales.

(1) *Loc. cit.*

